

Aus der Frauenklinik
der Justus Liebig-Universität Giessen
Direktor: Professor Dr. R. Kepp

Hormonabhängiges Verhalten der alkalischen Leukozytenphosphatase

Habilitationschrift

vorgelegt von
Dr. med. Peter Bailer

Giessen 1970

Aus der Frauenklinik
der Justus Liebig-Universität Giessen
Direktor: Professor Dr. R. Kepp

Hormonabhängiges Verhalten der alkalischen Leukozytenphosphatase

Habilitationsschrift

vorgelegt von

Dr. med. Peter Bailer

Giessen 1970

Aus der Frauenklinik
der Justus-Liebig-Universität Gießen
Direktor: Professor Dr. R. Kapp

Leukozytenphosphatase der alkalischen hormonabhängiges Verhalten



Habilitationsschrift

vorgelegt von

Dr. med. Peter Baier

Gießen 1970

Inhaltsverzeichnis

Seite

I. Einleitung	5
1. Die alkalischen Phosphatasen	5
2. Physiologische und geschlechtsspezifische Aktivitätsänderungen der alkalischen Leukozytenphosphatase	6
A. Neugeborene und Kinder	6
B. Männer und Frauen	7
C. Zyklus und Schwangerschaft	7
3. Die Bedeutung der alkalischen Leukozytenphosphatase für die Diagnostik verschiedener Erkrankungen	9
4. Der Einfluß verschiedener Substanzen auf die alkalische Leukozytenphosphatase ...	13
5. Die alkalische Leukozytenphosphatase im Tierexperiment	14
6. Bemerkungen	15
II. Fragestellung	16
III. Methodik	19
1. Zytochemischer Nachweis der alkalischen Leukozytenphosphatase	19
2. Biochemischer Nachweis der alkalischen Leukozytenphosphatase	26
3. Isolierung von Leukozyten	27
4. Herstellung von Leukozyten-Homogenaten .	29
IV. Eigene Untersuchungen	30
1. Tierexperimentelle Untersuchungen	30
A. Versuche an der Ratte	30
a. Applikation von Östradiolbenzoat und Progesteron	30
b. Applikation von Gonadotropinen ...	33

	<u>Seite</u>
c. Applikation von thyreotropen Hormon und Östradiolbenzoat	33
d. Kontrolltiere	34
B. Versuche am Kaninchen	34
a. Applikation von Östradiolbenzoat .	34
b. Applikation von Östradiolbenzoat nach vorangegangener Bestrahlung .	34
c. Kontrolltiere	35
2. Experimentelle Untersuchungen an Frauen.	35
A. Patientinnen ohne Ovarialfunktion ...	35
a. Applikation von thyreotropen Hormon und Östradiolbenzoat	36
b. Applikation von Progesteron	36
c. Der Vergleich zwischen alkalischer Serum-Phosphatase und Leukozyten-Phosphatase nach Applikation von Östradiolbenzoat	37
B. Gesunde Frauen mit und ohne hormonale Kontrazeption	37
C. ALP im Kindesalter und in der Pubertät	39
3. In - vitro - Untersuchungen	40
A. Östradiolwirkung auf Heparin-Blut ...	40
B. Östradiolwirkung auf isolierte Leukozyten	41
C. Einwirkung von östrogenhaltigem Blutplasma auf isolierte Leukozyten	41
D. Einwirkung von östrogenhaltigem Blutplasma auf Heparin-Blut	42
V. Ergebnisse	43
1. Statistische Berechnungen	43
2. Tierexperimentelle Untersuchungen	44
A. Versuche an der Ratte	44
a. Applikation von Östradiolbenzoat und Progesteron	44
b. Applikation von Gonadotropinen ...	54

	<u>Seite</u>
c. Applikation von thyreotropen Hormon und Östradiolbenzoat	65
d. Kontrolltiere	75
B. Versuche am Kaninchen	77
a. Applikation von Östradiolbenzoat.	77
b. Applikation von Östradiolbenzoat nach vorangegangener Bestrahlung.	84
c. Kontrolltiere	91
3. Experimentelle Untersuchungen an Frauen	95
A. Patientinnen ohne Ovarialfunktion ..	95
a. Applikation von thyreotropen Hormon und Östradiolbenzoat	95
b. Applikation von Progesteron	98
c. Vergleich zwischen alkalischer Serum- und Leukozytenphosphatase nach Applikation von Östradiolbenzoat	101
B. Gesunde Frauen mit und ohne hormonale Kontrazeption	104
C. ALP im Kindesalter und in der Pubertät	132
4. In - vitro - Untersuchungen	138
A. Östradiolwirkung auf Heparin-Blut	138
B. Östradiolwirkung auf isolierte Leukozyten	138
C. Einwirkung von östrogenhaltigen Blutplasma auf isolierte Leukozyten	138
D. Einwirkung von östrogenhaltigen Blutplasma auf Heparin-Blut	139
VI. Diskussion	151
VII. Zusammenfassung	162
VIII. Literaturverzeichnis	166

I. Einleitung

1. Die alkalischen Phosphatasen

Die Bezeichnung "alkalische Phosphatasen" (AP) umfaßt eine Gruppe von Enzymen, welche Monoester der Phosphorsäure und nicht zu hoch polymerisierte Nukleinsäuren in alkalischem Milieu hydrolysieren sowie in den Zellen De- und Transphosphorylierungsvorgänge steuern. Erstmalig wurden die AP von SUZUKI u. Mitarb. (85) im Jahre 1907 beschrieben. Die AP verschiedener Herkunft weist unterschiedliche physikalische und chemische Eigenschaften auf (41). Chemisch handelt es sich um zinkhaltige Proteine mit zwei Metallatomen pro Molekül (75). Die Substratspezifität der AP ist gering und die Hydrolysesgeschwindigkeit substratabhängig verschieden. Die AP scheinen in allen Lebewesen mit Ausnahme der grünen Pflanzen vorzukommen (24, 65, 76) und konnten beim Menschen und bei höheren Tieren in den meisten Organen und Körperflüssigkeiten nachgewiesen werden (53).

KAY vermutete bereits 1929, daß auch in Leukozyten Phosphatasen vorhanden sind (39). In den folgenden Jahrzehnten haben zahlreiche biochemische und histochemische Untersuchungen diese Vermutung bestätigt und ergeben, daß die alkalische Leukozytenphosphatase (ALP) hauptsächlich in den polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten auftritt (28, 31, 32, 68, 69, 71, 92, 96, 100 u. a.). WACHSTEIN zeigte 1946 durch erstmalige Anwendung einer zytochemischen Nachweisreaktion für "alkalische" Phosphormonoesterasen an Blutaussstrichen, daß hydrolytische Enzyme an fixierten und in ihrer morphologischen Struktur erhaltenen Zellen topochemisch nachweisbar sind. Gleichzeitig wies er nach,

daß isomorphe Blutzellen in ihrer Stoffwechselsituation eine beträchtliche funktionelle Heterogenität aufweisen können (96).

2. Physiologische und geschlechtsspezifische Aktivitäts- änderungen der alkalischen Leukozytenphosphatase

A. Neugeborene und Kinder

Über die Aktivitäts-Indices der ALP in der Zeitspanne zwischen Geburt und Pubertät liegen nur wenige Veröffentlichungen vor. MERKER (50) gibt für Säuglinge und Kleinkinder eine Index-Normalbreite von 90 bis 150 an. Dieselben Indices veröffentlichte PLENERT (62) für Kinder jeglichen Alters. SRAMKOVA u. Mitarb. (79, 80) fanden bei Kindern von 1 bis 5 Jahren einen Durchschnitts-Index von 65,6, bei Kindern von 1 bis 10 Jahren einen solchen von 61,2 und bei Kindern von 6 bis 15 Jahren einen durchschnittlichen Index von 44. Die obere Grenze der Normalwerte soll bei Kindern einen Index von 150 und bei jugendlichen Erwachsenen einen Index von 100 nicht überschreiten.

Neugeborene zeigen eine erhöhte ALP-Aktivität, welche unmittelbar nach der Geburt noch weiter ansteigt, um dann in den folgenden acht bis zwölf Tagen zu den Normalwerten des Kindesalters abzufallen (48, 59).

Die bisher angeführten Indices wurden nach dem histochemischen Azo-Kupplungsverfahren in jeweils etwas modifizierter Form ermittelt. ROSNER u. LEE (70) überprüften mit einer biochemischen Methode die Aktivität der ALP im Kindesalter und sahen bei Knaben knapp dreifach und bei Mäd-

chen zweifach höhere Werte als bei Erwachsenen entsprechenden Geschlechts. Zwischen den Geschlechtern konnten sie keine signifikanten Unterschiede finden.

B. Männer und Frauen

Histochemisch bestimmte Normalwerte der ALP-Aktivität im Erwachsenenalter weisen große Schwankungen auf. MERKER (50) gibt für Erwachsene ohne Geschlechtertrennung einen durchschnittlichen Index von 43 an. Die Ergebnisse anderer Autoren weisen ebenfalls ohne Berücksichtigung der Geschlechtsunterschiede Abweichungen nach oben und unten auf, wobei die Indices zwischen 12,5 und 71,5 liegen.

Untersucht man die ALP-Aktivität bei Frauen und Männern getrennt, so finden sich bei den weiblichen Probandinnen in der Regel die höheren Indices (8, 95). SRAMKOVA u. PROCHAZKOVA (80) geben für Männer einen Durchschnittsindex von 33,1, für Frauen einen solchen von 54,5 an. Signifikant höhere Aktivitäts-Indices als bei Männern konnten ROSNER u. LEE (70) bei geschlechtsreifen Frauen biochemisch nachweisen. Nach der Menopause gleicht sich die ALP-Aktivität der Frau wieder der des Mannes an (7, 8, 70). Zusammenfassend läßt sich feststellen, daß die Aktivität der ALP bei der Frau im fortpflanzungsfähigen Alter signifikant höher liegt als beim Mann, vor der Pubertät und nach der Menopause bei beiden Geschlechtern jedoch übereinstimmt.

C. Zyklus und Schwangerschaft

Über zyklusabhängige Schwankungen der ALP liegen wenige Berichte im Schrifttum vor (7, 55, 64, 70, 95). MÜLLER (55) überprüfte die Zyklen von drei Frauen und fand deutliche rhythmische Aktivitätsschwankungen der ALP mit

Tiefstwerten während der Menstruation. Ebenfalls zyklusabhängige Aktivitätsänderungen beschrieb BAUER-SIC (7) bei fünf Frauen, wonach der Zeitpunkt des größten Aktivitätsanstieges in der Zyklusmitte mit dem Ovulationsgipfel der Östrogene gut übereinstimmen soll. Diese Ergebnisse stehen im Gegensatz zu Untersuchungen von ROSNER u. LEE (70), welche bei allerdings nur drei Frauen keine wesentlichen Änderungen der Enzymaktivität finden konnten.

Das Verhalten der ALP während der Schwangerschaft wurde dagegen bislang häufiger sowohl histochemisch als auch biochemisch verfolgt (7, 9, 14, 21, 22, 34, 35, 48, 66, 70). PRITCHARD (66) hat bereits 1957 auf die physiologische Aktivitätsvermehrung und den frühen Anstieg der ALP-Aktivität hingewiesen. MERKER (48), BOREL u. Mitarb. (14) und QUIGLEY u. Mitarb. (67) bestätigten diese Befunde 1960. Nach HAERING (34) und QUIGLEY u. Mitarb. (67) nimmt die ALP-Aktivität mit der Dauer der Gravidität mehr oder weniger ständig zu, um unter der Geburt vorübergehend auf Höchstwerte anzusteigen. Im Wochenbett erfolgt dann eine kontinuierliche Aktivitätsabnahme bis nach ungefähr sechs Wochen die Normalwerte wieder erreicht sind. Bei stillenden Müttern soll der Aktivitätsrückgang langsamer erfolgen als bei abgestillten Frauen (34).

Von einigen Autoren wird die Aktivitätszunahme der ALP in der frühen Gravidität als praktikabler Schwangerschaftstest betrachtet oder zumindest als solcher diskutiert (21, 22, 35, 67). HAERING (34) lehnt diesen Nachweis jedoch wegen der zu geringen Spezifität und der damit verbundenen Gefahr falsch positiver Ergebnisse ab.

3. Die Bedeutung der alkalischen Leukozytenphosphatase für die Diagnostik verschiedener Erkrankungen

Während unsere Kenntnisse über das physiologische Verhalten der ALP noch sehr lückenhaft sind, ist unser Wissen über ihre Reaktionen bei pathologischen Zuständen etwas umfangreicher. Dazu dürfte die Tatsache beigetragen haben, daß der Nachweis der ALP mit relativ einfachen Mitteln möglich ist. Die bedeutsamste diagnostische Funktion erfüllt die ALP bei Erkrankungen aus dem Fachgebiet der INNEREN MEDIZIN. Einige der wichtigsten Beispiele seien angeführt:

Die chronische Myelose geht in der Regel mit einer stark erniedrigten Aktivität der ALP einher, wie erstmals von WACHSTEIN (96) 1946 mitgeteilt wurde. Diese Beobachtung haben inzwischen zahlreiche Autoren bestätigt (17, 40, 42, 43, 49, 77, 89, 97). Verminderte Enzymaktivität tritt weiter bei Aphosphatasie, Marchiafava-Strübing-Anämie und primär-chronischer Polyarthritidis rheumatica auf (97).

Die Bestimmung der ALP-Aktivität ist besonders aufschlußreich für die Differentialdiagnose chronische Myelose-Osteomyelosklerose (77). Diese in ihrer Symptomatik und im hämatologischen Befund sehr ähnlichen Krankheitsbilder weisen verschiedene ALP-Reaktionen auf: erniedrigte Werte bei der Myelose gegenüber normalen bis erhöhten Werten bei der Osteomyelosklerose. Ähnliches, wenn auch nicht so ausgeprägt, gilt für die Unterscheidung zwischen reaktiver Polyglobulie und Polycythaemia vera (42, 44, 77, 84).

Beim Morbus Hodgkin läßt die Verfolgung der ALP-Aktivität Rückschlüsse auf den Krankheitsverlauf zu. Hohen Aktivitätswerten im aktiven Stadium folgen niedrigere bis normale bei erfolgreicher Therapie, während ein neuerliches Ansteigen der ALP rezidivverdächtig ist (10, 29, 40, 77, 97).

Über den diagnostischen Wert der ALP bei Lebererkrankungen gehen die Meinungen verschiedener Autoren auseinander. LAMBERS u. BAUER-SIC (44) sahen erhöhte ALP-Werte überwiegend bei extrahepatischem Verschlußikterus und Leberzirrhose, hingegen meist niedrige Aktivitäten bei Hepatitis epidemica und cholestatischer Hepatose. Aktivitätsvergleiche bei Leberzirrhose, Hepatitis epidemica und Verschlußikterus ergaben dagegen nach IMMEL u. TILLING (37) keine differentialdiagnostisch verwertbaren Hinweise. Diese Befunde wurden von NOWICKI u. WERNZE (57) bestätigt, die darüberhinaus bei der Cholangio-Hepatitis stark erhöhte ALP-Aktivitäten feststellten. Dieselben Autoren berichteten über vermehrte Enzymaktivität bei Tumoren mit Leber- oder Knochenmetastasen. Interessanterweise fanden sie bei den Patienten mit Cholangio-Hepatitis auch bei fehlender Fieberreaktion und fehlender Leukozytose eine starke Aktivitätszunahme der ALP, während dies bei den Patienten mit Tumoren ohne Metastasen trotz erhöhter Leukozytenwerte nicht der Fall war. Ihre Ergebnisse widersprechen damit einer Schlußfolgerung von MOLONEY (52), welcher bei infektiös-toxischen Krankheitsprozessen und bei Patienten mit neutrophiler leukämoider Reaktion stark erhöhte ALP-Aktivitäten feststellte und darin einen ursächlichen Zusammenhang sah. NOWICKI u. WERNZE (57) leiten daraus ab, daß die Ursache der Aktivitätszunahme bei infektiös-toxischen Prozessen nicht identisch ist mit den Faktoren, die Leukozytose und Temperaturanstieg bedingen, und daß deshalb ein davon unabhängiger, spezifischer Faktor für die Beeinflussung der ALP verantwortlich sein dürfte.

Aus dem Fachgebiet der PÄDIATRIE liegen Untersuchungen über das Verhalten der ALP vor allem bei Infektionskrankheiten im Kindesalter vor. SRAMKOVA u. Mitarb. (79, 80)

publizierten 1968 die Reaktionsverläufe der ALP bei 406 Kindern mit Windpocken, Röteln, Mumps, Masern, infektiöser Hepatitis, infektiöser Mononucleose, eitriger Angina, Scharlach und eitriger Meningitis sowie bei weiteren 77 Kindern mit Masern. Virusinfektionen haben nach den Beobachtungen der Autoren keine Erhöhung der Enzymaktivität in den neutrophilen Leukozyten zur Folge, ausgenommen die komplizierten Virusinfektionen mit sekundärer bakterieller Infektion. Bei primär bakteriellen Infektionen stieg dagegen die ALP-Aktivität von Beginn an auf erhöhte Werte. Die an Masern erkrankten Kinder zeigten im 2. bis 3. Exanthemtag eine normale bis leicht erhöhte ALP-Aktivität, die bei einer bakteriellen Superinfektion hoch anstieg und mit deren Abklingen wieder abfiel, während sie bei einer virusbedingten Komplikation keine Veränderungen zeigte. Die Autoren glauben damit eine primäre von einer sekundären Masernkomplikation unterscheiden und den Erfolg einer antibakteriellen Behandlung beurteilen zu können.

Erstaunlicherweise fanden SRAMKOVA u. Mitarb. (81) bei 14 Patienten mit Zeckenmeningoencephalitis statistisch gesichert erhöhte ALP-Aktivitäten, obwohl es sich bei dieser Erkrankung um eine Virusinfektion handelt. Erwartungsgemäß waren dagegen die Enzymaktivitäten bei Mumpsmeningitis und -meningoencephalitis normal und bei purulenter Meningitis erhöht.

Biochemische Untersuchungen durch ALTER u. Mitarb. (1) haben bei der mongoloiden Idiotie eine signifikante Aktivitätssteigerung der ALP ergeben. Dies ist insofern sehr interessant, als beim Langdon Down-Syndrom bekanntlich überwiegend eine Trisomie des Chromosoms 21 vorliegt und man heute das für die Bildung des Phosphataseenzyms verantwortliche Gen im langen Arm des akrozentrischen Chromosoms 21 vermutet (1, 88).

Diese Hypothese stimmt mit Untersuchungen von WACHSTEIN (96) überein, daß bei der chronisch-myeloischen Leukämie die reifen Leukozyten aufgrund eines Enzymdefektes keine Phosphatase zu bilden im Stande sind. Dieser Enzymdefekt, inzwischen mehrfach bestätigt (38, 43, 101), wird mit einer bei der chronisch-myeloischen Leukämie regelmäßig vorkommenden Aberration des Chromosoms 21 in Verbindung gebracht. Die niedrigen ALP-Aktivitäten bei der chronisch-myeloischen Leukämie sowie die hohen ALP-Aktivitäten beim Langdon Down-Syndrom ließen sich somit auf genetische Veränderungen zurückführen.

Aus dem Fachgebiet der GYNÄKOLOGIE und GEBURTSHILFE existieren bislang nur wenige Untersuchungen über das Verhalten der ALP bei pathologischen Vorgängen. BERETTA (11) berichtete 1962 über elf Extrauteringraviditäten, bei denen er die ALP-Aktivität mit Hilfe der Kaplow'schen Methode bestimmt hatte. Die ALP-Indices schwankten zwischen 86 und 130 und lagen damit höher als die der Kontrollfälle (24 - 42), jedoch deutlich niedriger als die Indices der von ihm ebenfalls untersuchten ungestört verlaufenden Schwangerschaften (178 - 224). Der Verfasser ist der Meinung, daß das Ansteigen der ALP-Indices auf Werte über 60 auch zur Erhärtung der Diagnose einer Extrauteringravidität herangezogen werden kann. STAFF u. Mitarb. (83) konnten diese Auffassung nicht bestätigen. Sie fanden bei fünf von sechs Extrauteringraviditäten Aktivitätswerte, wie sie auch bei intrauterinen Schwangerschaften vorliegen.

SADOVSKY u. Mitarb. (73) publizierten im Jahre 1969 ihre Untersuchungen bei präeklampsischen Frauen. Demnach lag bei der überwiegenden Mehrzahl ihrer Patientinnen die ALP-Aktivität niedriger, als bei der während der Gravidität bekannten Zunahme der ALP terminentsprechend zu erwar-

ten gewesen wäre. In einigen Fällen setzte die Verlangsamung des Aktivitätsanstieges bereits einige Wochen vor dem Auftreten der ersten klinischen Symptome ein.

HAERING (34) verfolgte die ALP-Aktivität bei zwei Patientinnen mit einer Blasenmole und konnte mit Werten von 355 bzw. 360 Indices feststellen, die über die von ihm bei ungestörten Schwangerschaften ermittelten Höchstwerte weit hinausgingen.

4. Der Einfluß verschiedener Substanzen auf die alkalische Leukozytenphosphatase

Als geradezu "klassisch" kann der Pyrogenreiz-Versuch von MERKER (48, 50) gelten. Der Autor provozierte mit Pyrexal^R einen Aktivitätsanstieg der ALP und leistete damit auch einen interessanten Beitrag zu der Frage, in wie weit ein Zusammenhang zwischen der physiologischen Leukozytose Blutgesunder und dem Aktivitätsanstieg dieses Enzyms besteht. Auf dieses Problem wird in einem späteren Kapitel noch ausführlicher eingegangen.

Auf eine hormonale Beeinflussung der ALP haben VALENTINE u. Mitarb. (91, 93) bereits 1955 hingewiesen. Sie beobachteten unter Einwirkung von ACTH und Nebennierenrindensteroiden einen Anstieg der ALP-Aktivität und führten darauf auch die bei "Stress"-Situationen im weitesten Sinne (Infektion, Trauma, Operation, Schwangerschaft, Geburt) erhöhte Enzymaktivität zurück. WILTSHAW u. MOLONEY (102) sahen ebenfalls Aktivitätsanstiege der ALP nach Applikation von ACTH und Nebennierenrindensteroiden. PLENERT (63) konnte in vitro durch ACTH, Hydrocortison und Prednisolon keine

Steigerung der ALP-Aktivität erzielen, in vivo jedoch bei Mensch und Kaninchen durch Prednisolon. Beim Menschen beobachteten auch TRUBOWITZ u. Mitarb. (37) nach Applikation von Prednisolon eine deutliche Aktivitätssteigerung im Anschluß an einen kurzfristigen initialen Abfall.

Das Zytostatikum Endoxan^R ist nach Untersuchungen von MÜLLER (54) ebenfalls in der Lage, die Aktivität der ALP zu beeinflussen. Der Autor beobachtete bei Malignomkranken nach einem einmalig erfolgten intravenösen Endoxanstoß einen leichten Aktivitätsanstieg in den ersten zwei bis drei Tagen, sodann einen zum Teil ausgeprägten Aktivitätsverlust nach fünf Tagen und vom achten Tag an wieder einen langsamen, teilweise überschießenden Anstieg der Enzymaktivität. Er zieht daraus den Schluß, daß Endoxan in einer frühen Granulozytenvorstufe die Fermentanlage schädigt, was fünf Tage später durch niedrige ALP-Aktivitäten in den ausgereiften Granulozyten augenscheinlich wird. Der vorübergehende Aktivitätsanstieg in den ersten Tagen wird mit dem beim Pyrexal-Reiz beobachteten Mechanismus verglichen.

Über die Beeinflussung der ALP durch einige anorganische und organische Elemente und Verbindungen berichtete PLENER (60, 61) 1959. Erwähnt sei nur die Beobachtung, daß eine hemmende Wirkung auf die ALP durch Heparin nicht mit Sicherheit nachzuweisen war. Dies ist eine praktisch wichtige Feststellung bezüglich der Isolierung und Anreicherung funktionstüchtiger Leukozyten in vitro.

5. Die alkalische Leukozytenphosphatase im Tierexperiment

EBADI u. MCCOY (25) applizierten Kaninchen u. a. Progesteron und Östrogene. In beiden Fällen trat ein Anstieg der

ALP-Aktivität auf, wobei Progesteron einen nahezu dreifach stärkeren Effekt auslöste als Östrogen.

Das Verhalten der ALP bei experimentell erzeugten Tier-tumoren untersuchten LORBACHER u. Mitarb. (45). Sie sahen bei Lebertumoren und Gehörgangskarzinomen der Ratte einen signifikanten Anstieg der Enzymaktivität, wogegen subcutan überimpfte Yoshida-Sarkome keine Beeinflussung der ALP erkennen liessen. Intravenös appliziertes Endoxan^R induzierte bereits nach zwei bis drei Tagen bei tumor-freien Ratten einen Aktivitätsanstieg. Ob die vermehrte Enzymaktivität eine spezifische Wirkung des Zytostatikums ist oder auf unspezifische Faktoren zurückgeht, vermochten die Autoren nicht zu klären.

6. Bemerkungen

Die biochemische Funktion der ALP erstreckt sich, soweit bekannt, auf Hydrolyse, Synthese und Transphosphorylierung, wobei jedoch noch keine Aussage über die spezielle Bedeutung der alkalischen Phosphatasen für den Granulozytenstoffwechsel gemacht werden kann. Die zahlreichen Publikationen über die ALP beschränken sich auf die Beschreibung des reaktiven Enzymverhaltens bei physiologischen Vorgängen, Erkrankungen und bei Applikation verschiedener Substrate. Über Ursache und Wirkungsmechanismus dieses Geschehens liegen keine gesicherten Erkenntnisse vor.

II. Fragestellung

Die unterschiedlichen ALP-Aktivitäten bei Mann und Frau im geschlechtsreifen Alter sowie die beschriebenen Aktivitätsveränderungen im weiblichen Zyklus und während der Gravidität legen die Vermutung nahe, daß die weiblichen Geschlechtshormone einen Einfluß auf die ALP auszuüben vermögen. Besonders die von BAUER-SIC (7) an einem sehr kleinen Kollektiv während des Zyklus vorgenommenen Untersuchungen weisen darauf hin, daß möglicherweise die Östrogene unter den weiblichen Geschlechtshormonen bevorzugt oder ausschließlich zu einem Einwirken auf die ALP imstande sind. Die oben erwähnten Tierversuche von EBADI u. MCCOY (25) sprechen hingegen eher dafür, daß dem Progesteron die entscheidende Rolle bei den durch weibliche Geschlechtshormone induzierten Aktivitätsveränderungen zukommt.

Eine zufriedenstellende Antwort auf diese Fragen läßt sich durch ausschließliche Beschränkung auf die Ovarialhormone nicht geben. Bekanntlich unterliegen die Ovarien dem Prinzip der Regulation innerhalb eines Funktionskreises als einer geschlossenen Kausalkette. Für jene Systeme, die durch hypophysäre Tropine stimuliert werden, also Gonadal-, Interrenal- und Thyreoidal-Endocrinium, gilt das Prinzip der Folge- oder Nachlaufregler. So können Östrogene eine Hyperplasie der Nebennierenrinde hervorrufen (15). Es wird angenommen, daß die Nebennierenrindenfunktion zur Zeit der Ovulation eine Aktivierung erfährt (72), und daß Corticosteroide für die Auslösung der Ovulation eine Bedeutung haben (20).

Nach MAQSOOD (46) führt Unterfunktion oder Ausfall der Schilddrüse zu eindeutigen Störungen der Ovarialfunktion, wobei dieser Effekt möglicherweise nicht über das Zentralsystem, sondern durch eine direkte Beeinträchtigung der Zellfunktion ausgelöst wird (26). Hohe Östrogendosen sollen die Schilddrüsenfunktion hemmen (74). Zahlreiche weitere Beispiele für die gegenseitige Beeinflussung der korrelierenden Inkretsysteme Ovar-Nebennierenrinde-Schilddrüse zitierten STAEMMLER (82) und DICZFALUSY u. LAURITZEN (23).

Für den Regelvorgang im genannten Funktionskreis spielen nicht nur die beteiligten innersekretorischen Drüsen sondern zweifellos auch die Erfolgsorgane oder -gewebe als Wirkungsfeld eine Rolle. GRUIBRECHT u. LOESER (33) wiesen im Tierversuch nach, daß jeder Teil des Genitalapparates steuernd in die Tätigkeit der Schilddrüse eingreifen kann und folglich außer einem funktionstüchtigen Ovarium die anatomische Unversehrtheit des gesamten Genitalapparates erforderlich ist. Nach ihren Untersuchungen sind für die Einwirkung des Ovarium auf die Schilddrüse östrogene Substanzen verantwortlich, die ihre schilddrüsenwirksame Eigenschaft erst durch Passage des Uterus erlangen.

Aufgrund der oben angeführten Publikationen darf man eine Beeinflussung der ALP durch das Nebennierenrinden-Endocrinum als gegeben ansehen. Eine Einwirkung des Ovarium auf die ALP ist zu vermuten, wobei nicht eindeutig geklärt ist, welches der Ovarialhormone überwiegend oder ausschließlich diese Funktion ausübt. Schließlich bedarf es der Klärung, ob diesbezüglich Zusammenhänge mit der Schilddrüse bestehen.

Zusammenfassend ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Läßt sich eine Beeinflussung der ALP durch Östrogene, Progesteron und Gonadotropine nachweisen?
2. Besteht abhängig oder unabhängig vom Gonadal-Endocrinum eine Einwirkung der Schilddrüse auf die ALP?

III. Methodik

1. Zytochemischer Nachweis der alkalischen Leukozytenphosphatase

Zur Bestimmung der enzymatischen Aktivität in den Leukozyten stehen uns heute zwei Arbeitsmethoden zur Verfügung. Die zytochemische Methode ermöglicht Aussagen über Fermentreaktionen in der in ihrer morphologischen Struktur erhaltenen Zelle. Sie erlaubt durch eine optisch nachweisbare Reaktion die Lokalisation des Fermentes in den Zellen und den unmittelbaren Vergleich des morphologischen Zellbildes. Somit läßt sich leicht feststellen, welche Leukozyten eine vermehrte Enzymaktivität aufweisen, in welcher Größenordnung diese Aktivitätsvermehrung auftritt, und wie groß der Anteil der phosphataseaktiven Leukozyten an der Gesamtzahl der Leukozyten ist. Der Nachteil dieser Methode liegt darin, daß absolute quantitative Messungen nicht möglich sind, sondern lediglich semi-quantitative Ergebnisse ermittelt werden können. Als ein großer Vorteil ist hervorzuheben, daß die Mengen des erforderlichen Untersuchungsmaterials sehr klein und die methodischen Fehler gering sind. Auf die zweite Möglichkeit, die chemisch-analytische (biochemische) Methode, wird später eingegangen.

Im wesentlichen werden heute drei verschiedene Fermentreaktionen bei der zytochemischen Methode angewendet. Als erstes sei das bereits 1939 von GOMORI (30) und TAKAMATSU (36) unabhängig voneinander entwickelte Verfahren erwähnt. Hier wird ein physiologisches Substrat (Na- α -Glucero-phosphat) enzymatisch gespalten und die freigesetzte Phosphatgruppe in Gegenwart von Calciumionen in Calciumphosphat

übergeführt. Dieses lagert sich unlöslich am Ort der Enzymwirkung ab und wird über Cobaltphosphat in schwarz gefärbtes Cobaltsulfid umgewandelt. TAKAMATSU wendete statt des Cobaltsulfidverfahrens zur Sichtbarmachung die Kóssa-Silberfärbung an.

Ebenfalls sehr gebräuchlich ist die auf MENTEN u. Mitarb. (47) zurückgehende und von KAPLOW (38) in die Hämatologie eingeführte Azofarbstoffmethode. Diese Simultanmethode arbeitet mit einem unphysiologischen, synthetischen Substrat (α -Naphthyl-Phosphorsäureester oder α -Naphthylphosphorsäure oder Na- α -Naphthylphosphat) und einem Farbreaktwickler (Variaminblausalz B). Phosphatabspaltung und Bildung des unlöslichen, sichtbaren Azofarbstoffes erfolgen unmittelbar nebeneinander (Abb. 1). Diese Methode bringt durch eine Verkürzung der Reaktionskette, d. h. eine Beschleunigung der Reaktion, genauere Ergebnisse.

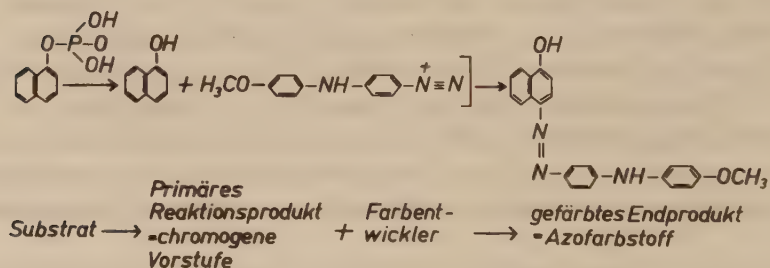


Abb. 1: Enzymwirkung und simultane Kupplungsreaktion des 4-Methoxy, 4-amino-diphenylaminsulfat (Variaminblausalz B) mit α -Naphthylphosphorsäure (nach Merker und Heilmeyer).

Als dritte Möglichkeit des zytochemischen Fermentnachweises sei das von BARNETT u. SELIGMAN (6) und HOLT (36) beschriebene Verfahren angeführt. Hierbei findet ein lösliches Substrat Verwendung, welches durch Fermenteinwirkung selbst zu einer unlöslichen, gefärbten Verbindung umgewandelt wird.

In den folgenden Untersuchungen wird zum zytochemischen Nachweis der ALP ausschließlich das auf MENTEN u. Mitarb. (17) zurückgehende Azo-Kupplungsverfahren in einer von MERKER u. HEILMEYER (49) und BAUER-SIC (7) leicht modifizierten Form angewandt.

Arbeitsgang:

1. Fixation lufttrockener Blutaussstriche über 15 min in Formoldampf bei 20° C.
2. Gründliches Spülen der Ausstriche in fließendem Wasser, Lufttrocknung.
3. Inkubation bei 4° C 120 min lang in folgender, jeweils frisch angesetzter Substratmischung (pH 9,4): 70 mg Phosphorsäure- α -Naphthylester in 100 ml 2%igem Barbitalnatrium, 140 mg Variaminblausalz B konz. in 40 ml 2%igem Barbitalnatrium. Beide Mischungen werden zunächst getrennt angesetzt, dann gemischt und durch zwei Schleicher-Schüll-Schwarzbandfilterpapiere filtriert. Die Inkubation erfolgt in Küvetten.
4. Gründliches Spülen der Ausstriche in fließendem Wasser, Lufttrocknung.
5. Gegenfärben mit Hämalaun über 8 min. Spülen in fließendem Wasser, Lufttrocknung.
6. Einbettung in Glyzerin-Gelatine.

Um unspezifische Färbereaktionen auszuschließen, wurden hitzeinaktivierte sowie normale Ausstriche in substratlo-

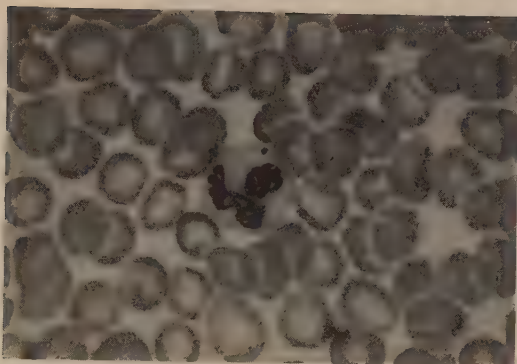
sem Medium demselben Arbeitsgang unterzogen. Diese Kontrollen erfolgten prinzipiell zu Beginn jeder neuen Versuchsreihe und wurden bei den weiteren Untersuchungen stichprobenartig fortgeführt.

Quantitative Auswertung:

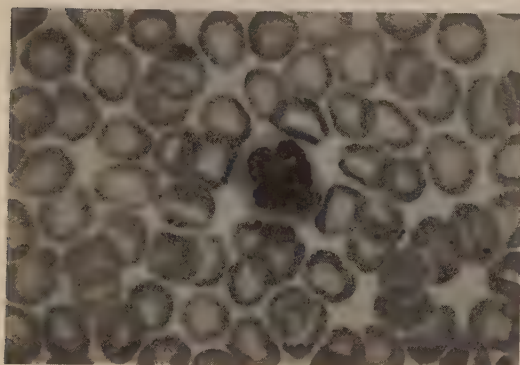
Die in Glyzerin-Gelatine eingebetteten Ausstriche wurden ausschließlich mittels Ölimmersion bei tausendfacher Vergrößerung untersucht. Nach einem auf BRODELL u. SWISHER (18) und KAPLOW (38) zurückgehenden Bewertungsverfahren werden 100 stab- und segmentkernige Granulozyten im Blutausstrich nacheinander ausgezählt und nach der Intensität des Farbstoffniederschlags in sechs Reaktionsklassen von 0 - 5 eingeteilt (Abb. 2).

Die Klassifizierung erfolgte in Anlehnung an MERKER u. HEILMEYER (49):

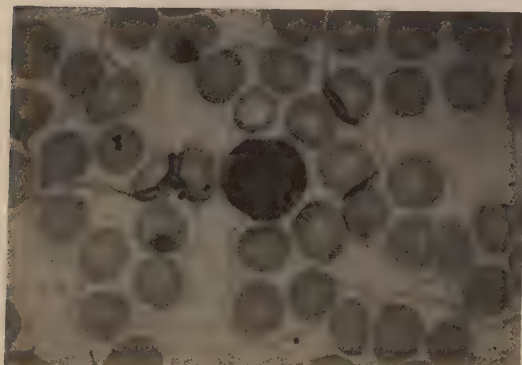
- 0 = Keine Reaktion
- 1 = Eben beginnende, eindeutig erkennbare braune Farbniederschläge im Zellzentrum, diffus oder granulär.
- 2 = Inhomogene Farbstoffniederschläge, zur Zellperipherie fortschreitend, Zytoplasmarand meist noch frei.
- 3 = Homogen verteilte Niederschläge in der ganzen Zelle, meist granulär, Zelle noch transparent, Zytoplasma noch erkennbar.
- 4 = Fleckenweise Zunahme der Farbstoffniederschläge, schwarz aussehend; Transparenz in diesen Zellbezirken schwindend; Kern noch gut erkennbar.
- 5 = Homogene Ausfüllung der ganzen Zelle mit schwarzen Farbstoffniederschlägen ohne jede Transparenz; Zellkern teils überlagert, teils noch erkennbar.



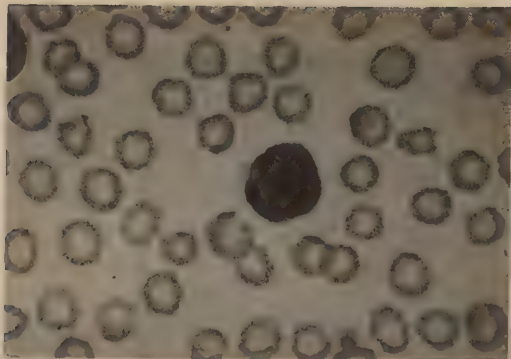
Klasse 0



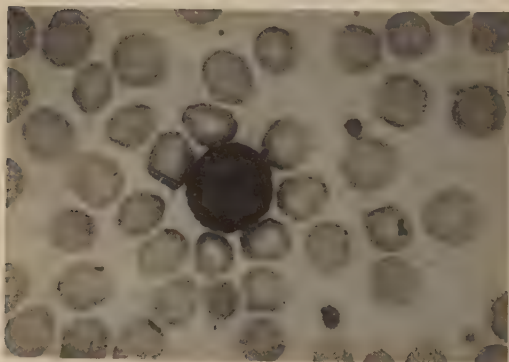
Klasse 1



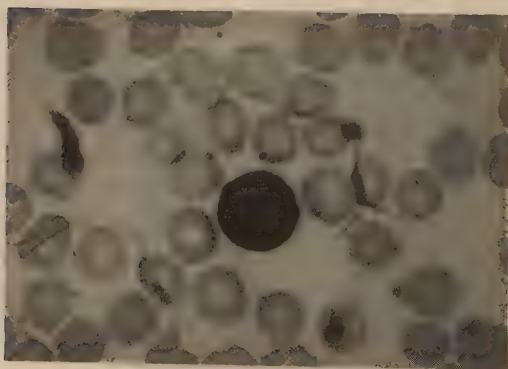
Klasse 2



Klasse 3



Klasse 4



Klasse 5

Abb. 2: Beispiel für die Klassifizierung neutrophiler Granulozyten nach der Intensität des Farbstoffniederschlages in sechs Reaktionsklassen.

Die Anzahl der in die einzelnen Aktivitätsklassen fallenden Zellen wird mit dem Klassenfaktor multipliziert, so-
dann werden die sechs Klassenergebnisse summiert. Die Ge-
samtsumme ergibt die Aktivitätszahl (= Index) des Aus-
striches (Abb. 3). Um die Fehlerbreite so gering wie mög-
lich zu halten, werden jeweils 100 Zellen in zwei Aus-
strichen desselben Arbeitsganges ausgezählt und der Mit-
telwert berechnet.

<i>Reaktionsklasse</i>	<i>Anzahl der Neutrophilen</i>	<i>Multiplikations- faktor</i>	<i>Phosphatase- aktivität</i>
0	48	0	0
1	21	1	21
2	17	2	34
3	13	3	39
4	1	4	4
5	0	5	0
<i>Phosphatase - Index</i>			98

Abb. 3: Beispiel für die Berechnung des Phosphatase-
Index.

Der zytochemische Nachweis erlaubt als semi-quantitative
Methode nur bedingt Rückschlüsse auf die in den Zellen
tatsächlich vorhandene Enzymaktivität. Sowohl im chemi-
schen Arbeitsgang als auch bei der weiteren Bearbeitung
der Ausstriche treten Aktivitätsverluste auf, so daß die
schließlich im Index zum Ausdruck gebrachte Aktivität nur
als Restaktivität anzusehen ist. Wenngleich anzunehmen
ist, daß sehr geringe Enzymaktivitäten sich dem zytoche-
mischen Nachweis entziehen, so bleibt doch die Relation

der Aktivitätsveränderungen in nachweisbarer Größenordnung konstant. Außerdem zeigten mehrfach durchgeführte Vergleiche zwischen dem zytochemischen und dem chemisch-analytischen Nachweis an isolierten Zellen eine sehr gute Übereinstimmung der Ergebnisse (18, 25, 49, 90).

2. Biochemischer Nachweis der alkalischen Leukozytenphosphatase

Die Schwierigkeiten des biochemischen Nachweises liegen weniger in der chemisch-analytischen Methodik, wofür einige brauchbare Verfahren zur Verfügung stehen, als vielmehr in der äußerst schwierigen Gewinnung und Aufarbeitung der Leukozytenkonzentrate. Auf dieses spezielle Problem wird weiter unten noch eingegangen. Für die in dieser Arbeit vorgenommenen Versuche wurde das auf BESSEY u. Mitarb. (12) zurückgehende Nachweisverfahren angewandt, welches in standardisierter Form in der Biochemica-Test-Combination der Firma Boehringer Mannheim GmbH vorliegt.

Chemikalien:

Lösung I:	Glycocoll	750 mg
	Mg Cl ₂ · 6 H ₂ O	20 mg
	Na OH	340 mg
	Aq. dest. ad	10 ml

Lösung II: 10 ml der Lösung I
+ 25 mg Natrium-p-nitrophenylphosphat

Zusätzlich: 0,02 N NaOH

Bestimmungsansatz:

1 ml der Lösung II mit 0,1 ml Leukozyten-Homogenat mischen und 30 min lang bei 37° C im Wasserbad stehen lassen. Als Leerwert läuft 1 ml der Lösung II ohne Leukozyten-Homogenat mit. Sodann wird der Probe 10 ml NaOH und dem Leerwert 10 ml NaOH + 0,1 ml Leukozytenhomogenat zugesetzt. Nach erneutem Mischen wird die Extinktion der Probe gegen den Leerwert durch Glas-Küvetten von 1 cm Schichtdicke bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen.

Die Berechnung der ALP-Werte erfolgt nach der Formel:

$E_{405 \text{ nm}} \times 200 = \text{Millieinheiten/ml (mU/ml)}$. 1 mU entspricht 0,06 $\mu\text{Mol-Einheiten}$ nach Bessey-Lowry.

3. Isolierung von Leukozyten

Die Gewinnung isolierter, "funktionstüchtiger" Leukozyten ist mit erheblich großen Schwierigkeiten verbunden. Häufig hat ein Großteil der Zellen in Leukozyten-Konzentraten an Lebensfähigkeit und physiologischen Eigenschaften, z. B. amöboider Beweglichkeit und Phagozytosefähigkeit, verloren. Die an isolierten Leukozyten gewonnenen Ergebnisse sind deshalb sehr kritisch zu beurteilen. Besonders schlechte Ergebnisse wurden durch Zentrifugieren des Gesamtblutes und Abpipettieren der Leukozyten erzielt. Deshalb gelangten Verfahren zur Anwendung, welche durch Zusatz verschiedenster Substrate eine Senkungsbeschleunigung provozierten und das Zentrifugieren überflüssig machten (16, 51, 94). Andererseits konnte OSTEN (58) nachweisen, daß Zusätze zur Beschleunigung der Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit (Dextran, FVP, Gelatine, Fibrinogen, Trockenplasma und Plasmafraktionen) zu einer Zelldeformie-

rung und einem mehr oder weniger starken Verlust des Zellinhaltes führen. Deshalb wurde in vorliegender Arbeit des Verfahren von OSTEN (58) angewandt, wobei dem Blut lediglich Heparin als Antikoagulans zugesetzt wurde.

Arbeitsgang:

1. 10 ml Heparin-Blut bei Zimmertemperatur zwischen 20° und 40 min sedimentieren lassen.
2. Mit Spritze und weitleumiger Kanüle Plasma abheben, kurz bevor die Zellmasse bis zur Höhe des Hämatokrits abgefallen ist.
3. Gesamtvolumen (V_1) in ml ablesen und nach Mischen Leukozytenzahl (L_1) pro ml bestimmen.
4. Plasma bei 2000 UpM über 5 min zentrifugieren.
5. Überstehendes leukozytenarmes und plättchenreiches Plasma abheben und sein Volumen (V_2) sowie die darin verbliebene Leukozytenzahl (L_2) bestimmen.
6. Die zur Enzymbestimmung zur Verfügung stehende Leukozytenzahl (L_x) berechnen:

$$L_x = V_1 \times L_1 - V_2 \times L_2$$

7. Leukozytensediment mit Phosphatpuffer nach Sörensen (pH 8) auffüllen bis die Suspension 2×10^7 Leukozyten pro ml enthält:

$$V_x = \frac{L_x}{2 \times 10^7}$$

Um die benötigte Blutmenge abschätzen zu können, empfiehlt es sich, in einer Voruntersuchung die Leukozytenzahl pro mm^3 des zirkulierenden Blutes sowie den Hämatokritwert und die Blutkörperchensenkungsgeschwindigkeit zu bestimmen. Dreimaliges Waschen der Leukozyten in physiologischer Kochsalzlösung ergab keine Verbesserung der Ergebnisse, so daß in den Untersuchungen darauf verzichtet wurde.

4. Herstellung von Leukozyten-Homogenaten

Die Gewinnung von Leukozyten-Homogenaten erfolgte durch mechanische Zertrümmerung der Zellen mit dem Homogenisator nach Potter-Elvehjem der Firma B. Braun, Melsungen. Die Leukozytensuspension wurde auf 0° C vorgekühlt und sodann 5 min homogenisiert. Der Homogenisator-Zylinder befand sich dabei in einer Kühlmischung aus Eis und Wasser. Die Drehzahl des Homogenisators betrug 3000 Upm. Um eine zu starke Erwärmung der Leukozytensuspension zu vermeiden, wurde die reine Homogenisationszeit von 5 min mehrmals durch Pausen von ein bis zwei Minuten unterbrochen.

IV. Eigene Untersuchungen

1. Tierexperimentelle Untersuchungen

A. Versuche an der Ratte*

Die Untersuchungen wurden an weiblichen und männlichen Albinoratten mit einem Gewicht zwischen 150 g und 300 g vorgenommen. Die weiblichen Tiere wurden teilweise ovariectomiert und/oder hysterectomiert (Tab. I u. II). Die Operationen erfolgten in Äthernarkose. Präoperativ wurde an mindestens drei aufeinanderfolgenden Tagen die normale ALP-Aktivität der Tiere zytochemisch aus dem Blut der Schwanzspitzen bestimmt. Postoperativ erfolgten solange Kontrolluntersuchungen bis die Ausgangswerte wieder erreicht waren bzw. die Enzymaktivität an mehreren aufeinanderfolgenden Tagen nicht mehr weiter absank. In der Regel dauerte die stressbedingte Aktivitätserhöhung längstens zwei bis drei Wochen.

a. Applikation von Östradiolbenzoat und Progesteron.

30 ovariectomierte und hysterectomierte weibliche Ratten und 30 männliche Ratten wurden in sechs Kollektive zu je 10 Tieren unterteilt (Kollektive I - III und XV - XVII). Den Tieren der Kollektive I und XV wurde 0,002 mg Östradiolbenzoat (Progynon^R B oleosum) an fünf aufeinanderfolgenden Tagen subcutan injiziert. Die Normalwerte der ALP-Aktivität wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen vor der ersten Injektion bestimmt. Nach der Hormonapplikation erfolgten solange Kontrollen der Enzymaktivität, bis die Ausgangswerte wieder erreicht bzw. keine Aktivitätsveränderungen mehr zu erwarten waren. Den Ratten der Kollekti-

* Ein Teil dieser Versuche wurde gemeinsam mit Fräulein cand. med. J. Fehring und Herrn cand. med. H. Röhr vorgenommen und auszugsweise veröffentlicht (3, 4).

Kollektiv	Operation	Medikation	
		1.	2.
I	Ovariectomie	0,002 mg	
	Hysterektomie	Östradiolbenzoat	
II	Ovariectomie	1 mg	
	Hysterektomie	Progesteron	
III	Ovariectomie	0,002 mg	
	Hysterektomie	Östradiolbenzoat + 1 mg Progesteron	
IV	Ovariectomie	5 IE PMS	
	Hysterektomie		
V	Ovariectomie	0,5 IE HCG	
	Hysterektomie		
VI	Ovariectomie	5 IE PMS	
	Hysterektomie	+ 0,5 IE HCG	
VII	-	5 IE PMS	
VIII	-	0,5 IE HCG	
IX	-	5 IE PMS	
	-	+ 0,5 IE HCG	
X	Ovariectomie	2 IE	
	Hysterektomie	thyreotropes Hormon	

Kollektiv	Operation	Medikation	
		1.	2.
XI	Ovariectomie	0,2 IE thyreotropes Hormon	0,2 IE thyreotropes Hormon + 0,002 mg Östradiolbenzoat
	Hysterektomie	Hormon	
XII	Ovariectomie	0,2 IE thyreotropes Hormon	0,2 IE thyreotropes Hormon + 0,002 mg Östradiolbenzoat
XIII	-	0,2 IE thyreotropes Hormon	0,2 IE thyreotropes Hormon + 0,002 mg Östradiolbenzoat
XIV	Ovariectomie		1 ml Olivenöl
	Hysterektomie		

Tab. I: Übersicht über die bei weiblichen Ratten vorgenommenen Operationen und über die täglich applizierten Hormone.

Kollektiv	Medikation
XV	0,002 mg Östradiolbenzoat
XVI	1 mg Progesteron
XVII	0,002 mg Östradiolbenzoat
	+ 1 mg Progesteron

Tab. II: Übersicht über die den männlichen Ratten täglich applizierten Hormone.

ve II und XVI wurde an fünf aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 1 mg Progesteron (Proluton[®]) subcutan verabfolgt. Die Aktivitätskontrollen wurden, wie beschrieben, vorgenommen. Beide Hormone gemeinsam in der angeführten Dosierung erhielten die Tiere der Kollektive III und XVII als subcutane Injektion. Die Aktivitätsverläufe wurden wie bei den anderen Kollektiven überprüft (Tab. I u. II).

b. Applikation von Gonadotropinen

60 weibliche Ratten wurden in sechs Kollektive zu je 10 Tieren unterteilt (Kollektive IV - IX). Die Tiere der Kollektive IV bis VI waren ovariektomiert und hysterektomiert, die Tiere der übrigen Kollektive nicht operiert. Je ein Kollektiv mit operierten und nicht operierten Tieren erhielt an vier aufeinanderfolgenden Tagen 5 IE PMS = Pregnant Mare Serum Gonadotrophin (Anteron[®]) bzw. 0,5 IE HCG = Human Chorion Gonadotrophin (Progynol[®]) bzw. beide Hormone gemeinsam in der gleichen Dosierung als subcutane Injektion (Tab. I und II). Die vorausgegangene und nachfolgende Verlaufskontrolle der Enzymaktivität erfolgte ebenfalls wie oben beschrieben.

c. Applikation von thyreotropem Hormon und Östradiolbenzoat

40 weibliche Ratten wurden in vier Kollektive zu je 10 Tieren unterteilt (Kollektive X - XIII). Die Ratten der Kollektive X und XI waren ovariektomiert und hysterektomiert, diejenigen des Kollektivs XII nur ovariektomiert und diejenigen des Kollektivs XIII nicht operiert. An fünf aufeinanderfolgenden Tagen wurde den Tieren des Kollektivs X je 2 IE thyreotropen Hormons (Thyreostimulin[®]) subcutan injiziert, den Tieren der Kollektive XI bis XIII je 0,2 IE thyreotropen Hormons und zusätzlich nach sechs bis neun Tagen fünf Mal in täglichen Abständen 0,002 mg Östradiolbenzoat. Die Aktivitätskontrollen wurden wie oben vorgenommen (Tab. I u. II).

d. Kontrolltiere

Zehn ovariectomierte und hysterectomierte Ratten dienten als Kontrollgruppe (Kollektiv XIV). Ihnen wurde das in oben angeführten Versuchen als Verdünnungsmittel benutzte reine Olivenöl in der aus Tabelle I hervorgehenden Dosierung verabfolgt.

B. Versuche an Kaninchen

Die Untersuchungen wurden an weiblichen Bastardkaninchen mit einem Gewicht zwischen 4 kg und 6 kg vorgenommen. Unmittelbar vor Versuchsbeginn erfolgte die zytochemische Bestimmung der ALP-Aktivitätsnormalwerte aus dem der Ohrvene entnommenen Blut über mindestens drei aufeinanderfolgenden Tage. Neben der ALP-Aktivität wurde in allen Fällen die Leukozytenzahl pro mm^3 bestimmt.

a. Applikation von Östradiolbenzoat

20 Kaninchen wurden in zwei gleichgroße Kollektive (I und II) unterteilt. Die Tiere des Kollektivs I erhielten an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 5 mg Östradiolbenzoat und diejenigen des Kollektivs II 2 mg Östradiolbenzoat als intramuskuläre Injektion. Nach der Hormonapplikation erfolgte solange eine tägliche Verlaufskontrolle bis die Ausgangswerte der ALP wieder erreicht bzw. keine weiteren Aktivitätsveränderungen mehr zu erwarten waren.

b. Applikation von Östradiolbenzoat nach vorangegangener Bestrahlung

20 Kaninchen erhielten eine einmalige Radiatio von 800 R OD Co⁶⁰ - Strahlung. Die Bestrahlung wurde mit dem Gammastron 1 c der Firma Siemens AG vorgenommen. Das Gerät hatte zur Zeit der Versuche eine Quellenstärke von 3800 Ci.

Vom Tag nach der Bestrahlung an wurde zehn Kaninchen (Kollektiv III) 5 mg Östradiolbenzoat und zehn weiteren Tieren (Kollektiv IV) 2 mg Östradiolbenzoat über drei aufeinander-

derfolgende Tage intramuskulär verabfolgt. Die ALP-Aktivität und Leukozytenzahl pro mm³ wurden nach der Hormonapplikation solange täglich bestimmt, bis keine wesentlichen Veränderungen mehr zu erwarten waren.

c. Kontrolltiere

Zehn Kaninchen (Kollektiv V) unterlagen der gleichen Bestrahlung und Verlaufskontrolle wie die Tiere der Kollektive III und IV. Diesen Kaninchen wurde jedoch kein Östradiolbenzoat verabfolgt.

2. Experimentelle Untersuchungen an Frauen

A. Patientinnen ohne Ovarialfunktion

Die Gruppe umfaßte 40 Frauen, die sich, meist wegen eines Malignoms der Genitalorgane, in stationärer Behandlung befanden und chirurgisch oder radiologisch kastriert waren. Die postoperative Phase war bereits soweit abgeschlossen bzw. die radiologische Behandlung soweit fortgeschritten, daß eine Veränderung der ALP-Aktivität als Folge der Therapie nicht mehr zu erwarten war und, wie Voruntersuchungen zeigten, auch nicht mehr eintrat. Frauen mit Fieberreaktionen, banalen oder komplizierten Infekten oder mit sonstigen Erkrankungen, welche bekanntermaßen zu Aktivitätsveränderungen der ALP führen können, wurden in die Untersuchungsreihe nicht aufgenommen. Desgleichen schieden Patientinnen aus, die unter zytostatischer Behandlung standen. Die ALP-Bestimmungen erfolgten, soweit nicht anders angegeben, zytochemisch aus dem Blut des Ohrläppchens.

a. Applikation von thyreotropem Hormon und Östradiolbenzoat^{*}

Dieses Kollektiv bestand aus 13 Frauen, denen an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 10 IE thyreotropen Hormons (Thyreostimulin^R) und einige Tage später, nachdem keine Aktivitätsveränderungen mehr zu erwarten waren in der gleichen Zeitfolge jeweils 5 mg Östradiolbenzoat (Progynon^R B oleosum) intramuskulär injiziert wurde. Die ALP-Aktivität wurde dreimal vor der ersten Hormonapplikation und danach in täglichen Abständen solange bestimmt, bis keine wesentlichen Aktivitätsveränderungen mehr zu erwarten waren.

Den Frauen dieses Kollektivs wurden deswegen zwei verschiedene Hormone nacheinander appliziert, weil die Zahl derjenigen Patientinnen, welche unseren Versuchsbedingungen entsprachen, relativ klein war. Die lange stationäre Verweildauer dieser Frauen ermöglichte es jedoch, die Abstände zwischen den verschiedenen Hormoninjektionen so groß zu wählen, daß ein Einfluß des zuerst verabfolgten Hormons auf die Wirkung des danach applizierten mit größter Wahrscheinlichkeit nicht in Frage kam.

b. Applikation von Progesteron

An drei aufeinanderfolgenden Tagen erhielten 12 Frauen jeweils 10 mg Progesteron (Proluton^R) als intramuskuläre Injektion. Die Bestimmung der Ausgangswerte und die Verlaufskontrolle geschahen in gleicher Weise wie unter a. beschrieben.

* Ein Teil dieser Untersuchungen wurde gemeinsam mit Frau Medizinalassistentin Parwin Rothe vorgenommen und auszugsweise veröffentlicht (5).

c. Der Vergleich zwischen alkalischer Serum-Phosphatase und Leukozytenphosphatase nach Applikation von Östradiolbenzoat.

15 Frauen wurden an drei aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 10 mg Östradiolbenzoat intramuskulär appliziert. Unmittelbar vor der ersten Hormoninjektion erfolgte eine Entnahme von ca. 50 ml venösen Blutes zur chemisch-analytischen Bestimmung der alkalischen Serum- und Leukozytenphosphatase. Diese wurde in der im Abschnitt Methodik unter 2. beschriebenen Weise vorgenommen. Eine weitere Bestimmung der Enzymaktivitäten erfolgte drei Tage später, also 24 Stunden nach der letzten Hormonapplikation.

B. Gesunde Frauen mit und ohne hormonale Kontrazeption*

Die 30 Frauen dieser Untersuchungsreihe wurden in zwei Gruppen unterteilt. Die erste Gruppe bestand aus 18 gesunden, regelmäßig menstruierten Frauen im Alter von 15 bis 47 Jahren. Bei jeder Frau wurde die ALP mindestens über einen Zyklus, meistens jedoch über zwei Zyklen hinweg überprüft. Gleichzeitig legten die Frauen Basaltemperaturkurven der untersuchten Zyklen an.

Die zweite Gruppe setzte sich aus 12 Frauen zwischen 21 und 35 Jahren zusammen, welche einen oralen Kontrazeptionshemmer einnahmen, sechs der 12 Frauen bereits länger als drei Monate, die restlichen sechs Frauen erstmals mit Beginn der Versuche. Die ALP-Aktivität aller 12 Frauen wurde über 17 Zyklen hinweg bestimmt. Leider war es nicht möglich, bedingt durch die täglich erforderli-

* Ein Teil dieser Untersuchungen wurde gemeinsam mit Fräulein cand. med. M. Amtmann vorgenommen und auszugsweise veröffentlicht (2).

chen Blutentnahmen, genügend viele Frauen zu finden, welche den gleichen Ovulationshemmer einnahmen. So kamen vier verschiedene Präparate zur Anwendung, was jedoch keinen wesentlichen Nachteil darstellte, da in erster Linie eine gleichmäßige Östrogenzufuhr gewährleistet sein sollte. Es handelte sich um die Ovulationshemmer Aconcen^R, Etalontin^R, Eugynon^R und Noracyclin^R. Sie enthielten pro Tablette bzw. Dragee als Östrogenanteil Mestranol bzw. Äthinylöstradiol sowie vier verschiedene Gestagene (Tabelle III).

Bei allen 30 Frauen wurden tägliche Ausstriche aus dem Blut des Ohrläppchens angefertigt und zytochemisch zur Bestimmung der ALP-Aktivität untersucht.

Prob.	Präparat	Östrogen	Gestagen	Zyklustage der Einnahme
I	Aconcen ^R	0,1 mg Mestranol	3 mg Chlormadi- nonacetat	5. - 25.
II	Aconcen ^R	0,1 mg Mestranol	3 mg Chlormadi- nonacetat	5. - 25.
III	Aconcen ^R	0,1 mg Mestranol	3 mg Chlormadi- nonacetat	5. - 25.
IV	Aconcen ^R	0,1 mg Mestranol	3 mg Chlormadi- nonacetat	5. - 25.
V	Aconcen ^R	0,1 mg Mestranol	3 mg Chlormadi- nonacetat	5. - 25.
VI	Etalontin ^R	0,05 mg Äthinyl- östradiol	25 mg Norethiste- ronacetat	5. - 25.

VII	Etalontin ^R	0,05 mg Äthinyl- östradiol	2,5 mg Norethiste- ronacetat	5. - 25.
VIII	Etalontin ^R	0,05 mg Äthinyl- östradiol	2,5 mg Norethiste- ronacetat	5. - 25.
IX	Eugynon ^R	0,05 mg Äthinyl- östradiol	0,5 mg Norgestrel	5. - 25.
X	Eugynon ^R	0,05 mg Äthinyl- östradiol	0,5 mg Norgestrel	5. - 25.
XI	Noracyclin ^R	0,15 mg Mestranol	5 mg Äthinyl- östrenol	5. - 24.
XII	Noracyclin ^R	0,15 mg Mestranol	5 mg Äthinyl- östrenol	5. - 24.

Tab. III: Übersicht über die Zusammensetzung der Ovulationshemmer und ihre Dosierung

C. ALP im Kindesalter und in der Pubertät

151 gesunde Mädchen zwischen 7 und 15 Jahren wurden den Lebensjahren entsprechend in neun Kollektive aufgeteilt. Die Kollektive I bis VI (7 bis 12 Jahre) bestanden ausschließlich aus amenorrhöischen Mädchen, während die Probandinnen der Kollektive VII bis IX (13 bis 15 Jahre) alle regelmäßige oder unregelmäßige Periodenblutungen aufwiesen. Bei allen Mädchen wurde eine einmalige zytochemische ALP-Bestimmung vorgenommen, wobei der Abnahmetag bei den Mädchen der Kollektive VII bis IX ohne Rücksicht auf den Zyklusablauf gewählt wurde.

3. In - vitro - Untersuchungen

A. Östradiolwirkung auf Heparin-Blut

10 gesunden männlichen Versuchspersonen wurden 5 ml venöses Blut entnommen und mit Heparin-Natrium ungerinnbar gemacht. Diesem Blut wurde in Propandiol gelöstes Östradiol in verschiedener Konzentration beigegeben. Nach einer Inkubationszeit von 1, 2, 3, 4, 7 und 22 Stunden bei 37° C im Wasserbad erfolgte an Blutaussstrichen die zytochemische Bestimmung der ALP-Aktivität. Die Leerwerte wurden jeweils aus dem Blut der Versuchsperson ermittelt, welches die gleichen Arbeitsgänge wie die Proben durchlief, jedoch kein Östradiol, sondern nur das Lösungsmittel Propandiol in der entsprechenden Konzentration enthielt. Die Dosierungen sind aus Tabelle IV zu entnehmen.

Stammlösung: 0,05 g Östradiol in 100 ml Propandiol

Probe	Leerwert
0,1 ml Stammlösung (= 50 μ g Östradiol)	0,1 ml Propandiol
0,05 ml Stammlösung (= 25 μ g Östradiol)	0,05 ml Propandiol
0,02 ml Stammlösung (= 10 μ g Östradiol)	0,02 ml Propandiol
0,005 ml Stammlösung (= 2,5 μ g Östradiol)	0,005 ml Propandiol

Tab. IV: Übersicht über die Dosierung der jeweils 5 ml Heparinblut zugesetzten Substrate

B. Östradiolwirkung auf isolierte Leukozyten

Aus dem venösen Heparin-Vollblut derselben männlichen Versuchspersonen wie unter A. wurden die Leukozyten nach dem im Abschnitt "Methodik" geschilderten Verfahren isoliert und mit Phosphatpuffer aufgeschwemmt. Diese Leukozytenaufschwemmung erhielt einen Zusatz von 0,1 ml der in Tabelle IV aufgeführten Stammlösung, d. h. 50 μ g Östradiol, und wurde sodann bei 37° C fünf Stunden im Wasserbad inkubiert. Zur Leerwertbestimmung wurde der Leukozytenaufschwemmung 0,1 ml Propandiol ohne Östradiol zugesetzt. Wie schon im Abschnitt "Methodik" erwähnt wurde, schwanken die Volumina der Leukozytenaufschwemmungen immer etwas, da sie von der Leukozytenzahl pro mm³ der Versuchsperson abhängig sind. Folglich ist auch die pro ml Leukozytenaufschwemmung zugesetzte Östradiolmenge geringen Schwankungen unterworfen. Dies hat jedoch auf das Ergebnis der Versuche keinen großen Einfluß, da in erster Linie eine qualitative Wirkung der Östrogene auf die ALP nachgewiesen werden sollte.

Die Bestimmung der ALP-Aktivität erfolgte chemisch-analytisch nach Homogenisierung der Leukozyten vor und nach der Inkubation mit Östradiol.

C. Einwirkung von östrogenhaltigem Blutplasma auf isolierte Leukozyten

Sieben chirurgisch oder radiologisch kastrierte Patientinnen erhielten 30 mg Östradiolbenzoat in Form einer intramuskulären Injektion. Vor und 30 min nach der Hormonapplikation wurden 20 ccm venöses Blut zur Plasmagewinnung (5 min Zentrifugieren bei 3000 UpM) abgenommen und mit einem geringen Heparinzusatz als Antikoagulanzen versetzt.

Von venösem Blut sieben gesunder männlicher Versuchspersonen wurden zwei Leukozytenkonzentrate hergestellt und die ALP chemisch-analytisch bestimmt. Sodann wurden eines der beiden Leukozytenkonzentrate mit dem vor, das andere mit dem nach der Hormonverabfolgung gewonnenen Plasma der Patientinnen aufgefüllt bis die Aufschwemmung 2×10^7 Leukozyten enthielt. Nach der anschließend erfolgenden Inkubation der Leukozytenaufschwemmungen über 5 Stunden bei 37°C im Wasserbad wurden die Leukozyten erneut isoliert und die alkalische Leukozytenphosphatase nach Homogenisierung der Zellen chemisch-analytisch bestimmt.

D. Einwirkung von östrogenhaltigem Blutplasma auf Heparin-Blut

Wie unter C. beschrieben wurde von 8 kastrierten Patientinnen normales und vermehrt östrogenhaltiges Blutplasma gewonnen. 5 ml dieser Plasmen wurden jeweils 5 ml Heparinblut einer gesunden männlichen Versuchsperson zugesetzt, nachdem vorher die alkalische Leukozytenphosphatase des Mannes bestimmt worden war. Sodann wurde die Blut-Plasma-Mischung 5 Stunden bei 37°C im Wasserbad inkubiert und anschließend erneut die alkalische Leukozytenphosphatase aus den isolierten und homogenisierten Leukozyten bestimmt.

V. Ergebnisse

1. Statistische Berechnungen*

Die statistische Berechnung der Ergebnisse erfolgte, sofern nicht ausdrücklich anders vermerkt, mit mehrfachen Varianzanalysen (Modell bei Winer (103), S. 302). Beispiele siehe Seite 122/123. Geprüft wurde:

1. Zeitliche Änderungen der Kurven (in den Beispielen Faktor B).
2. Paralleler Verlauf von Kurven verschiedener Gruppen (in den Beispielen Wechselwirkung A B).
3. Unterschiede zwischen den Gesamtmittelwerten der Gruppen (in den Beispielen Faktor A).

Falls Kurven verschiedener Gruppen parallel verliefen und keine Unterschiede der Gesamtmittelwerte bestanden, wurden die Kurvenverläufe als gleichartig betrachtet.

Die Streubreite der Einzelwerte (Standardabweichung) wurde nach der Formel

$$s = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{(n-1)}} \quad \text{berechnet.}$$

Für die Berechnung des mittleren Fehlers der Mittelwerte galt die Formel

$$s_{\bar{x}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}} = \frac{s}{\sqrt{n}}$$

*Herrn Professor Dr. J. Dudek, Direktor des Instituts für Medizinische Statistik und Dokumentation an der Universität Gießen, bin ich für Beratung und Vornahme der statistischen Berechnungen zu Dank verpflichtet.

2. Tierexperimentelle Untersuchungen

A. Versuche an der Ratte

a. Applikation von Östradiolbenzoat und Progesteron

Die Verabfolgung von 0,002 mg Östradiolbenzoat an fünf aufeinanderfolgenden Tagen hatte bereits nach 24 Stunden einen deutlichen Aktivitätsanstieg bei den weiblichen und männlichen Tieren zur Folge. Der mittlere Ausgangs-Index betrug bei den weiblichen Ratten 211,4 Index-Einheiten, bei den männlichen Tieren 156 Index-Einheiten. Das mittlere Index-Maximum lag bei den weiblichen Ratten bei 366,2, bei den männlichen bei 415,2. Zwischen den Gesamtmittelwerten beider Kollektive bestand kein Unterschied (Tabelle V und VI, Abbildung 4 und 5).

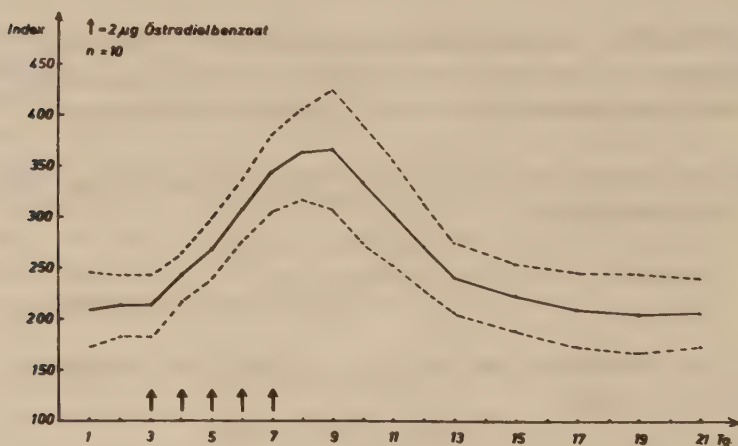


Abb. 4: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat bei Ratten des Kollektivs I. Der 2s-Bereich ist angegeben.

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	201	187	223	179	231	205	214	219	198	234
2	205	193	221	185	239	212	217	221	209	225
3*	208	192	224	183	233	211	219	220	208	228
4*	240	238	239	225	267	234	245	243	232	252
5*	273	261	251	267	291	255	281	275	249	283
6*	302	297	279	295	322	316	319	328	304	313
7*	343	333	304	325	371	360	354	347	341	346
8	323	346	343	351	382	379	367	398	369	369
9	295	348	369	355	396	383	365	393	373	385
10	258	320	337	333	341	356	329	362	341	349
11	244	295	285	299	332	327	298	326	315	319
12	230	267	254	247	285	295	273	287	279	283
13	214	244	233	225	231	261	241	239	243	274
15	196	211	217	210	251	242	219	227	217	229
17	198	197	192	193	243	217	217	208	201	238
19	195	185	203	181	229	206	210	215	203	241
21	199	186	213	183	228	207	209	213	200	235

Tab. V: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat (*) bei Ratten des Kollektivs I.

Indices

Tag	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	168	172	143	148	157	148	167	157	142	149
2	167	173	153	151	151	151	159	154	143	154
3*	171	168	154	153	162	154	161	156	147	148
4*	205	230	238	198	226	211	201	212	196	187
5*	246	264	302	251	287	246	251	264	267	242
6*	305	334	373	305	334	318	349	348	355	319
7*	395	410	486	368	387	401	425	430	418	432
8	381	375	431	355	403	395	401	398	390	388
9	356	331	431	347	378	355	364	371	374	367
10	325	318	371	345	326	302	318	323	342	342
11	294	260	364	322	280	312	278	325	305	308
12	252	241	314	287	257	276	259	282	273	281
13	218	220	267	247	231	248	240	252	249	246
15	208	215	246	223	200	209	211	203	223	197
17	174	178	193	184	181	173	187	178	195	156
19	164	161	174	169	166	163	165	142	173	146
21	154	141	151	155	157	154	156	147	119	141

Tab. VI: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat (*) bei Ratten des Kollektivs XV.

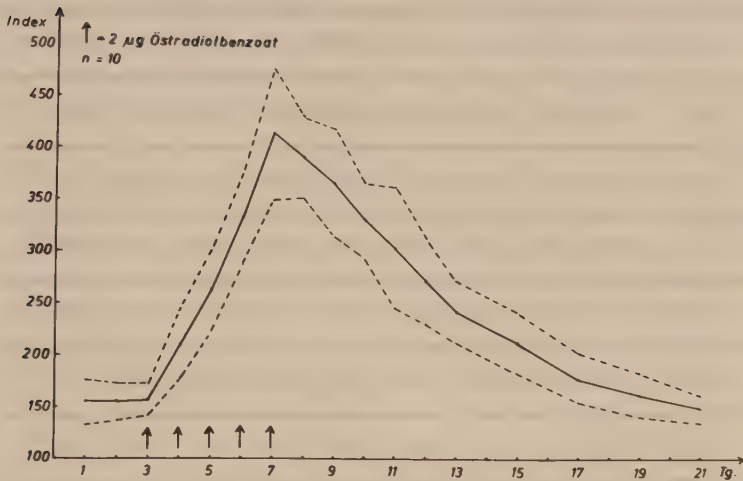


Abb. 5: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat bei Ratten des Kollektivs XV. Der 2s-Bereich ist angegeben.

Die Applikation von 1 mg Progesteron an fünf aufeinanderfolgenden Tagen bewirkte außer relativ geringen täglichen Schwankungen keine Aktivitätsänderungen. Die mittleren Ausgangswerte lagen bei den weiblichen Ratten bei 207,9 Index-Einheiten, bei den männlichen Tieren bei 132,3 Index-Einheiten (Tabelle VII und VIII, Abbildung 6 und 7).

Indices

Tag	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	191	210	173	199	225	235	204	213	202	186
2	205	188	183	210	219	266	200	219	213	192
3*	199	209	169	214	229	244	213	221	212	190
4*	191	214	173	212	233	249	202	222	208	192
5*	195	207	182	219	214	238	216	211	198	187
6*	189	189	191	215	218	241	218	207	199	195
7*	205	203	187	207	206	229	215	206	212	201
8	201	206	195	209	208	232	221	213	221	195
9	188	193	192	201	217	238	209	218	216	193
10	186	194	198	214	225	249	219	225	207	187
11	209	199	186	218	217	242	213	222	209	180
12	200	202	179	210	222	240	222	216	205	179
13	187	207	184	208	208	236	217	219	200	185

Tab. VII: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von Progesteron (*) bei Ratten des Kollektivs II.

I n d i c e s

Tag	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	130	133	142	124	127	136	127	121	132	136
2	134	121	149	129	122	142	124	130	143	129
3*	136	127	152	126	134	133	124	128	146	131
4*	132	143	145	133	138	134	132	126	152	125
5*	124	113	140	139	129	129	136	133	141	124
6*	131	132	139	129	131	134	129	137	138	120
7*	135	127	146	125	125	138	126	134	143	128
8	137	124	150	132	122	140	121	141	146	126
9	129	120	142	136	126	132	119	132	138	134
10	131	131	132	128	137	134	125	139	135	139
11	128	139	138	129	139	127	132	133	139	135
12	135	136	136	131	130	131	135	133	146	132
13	126	132	131	122	128	137	136	129	151	136

Tab. VIII: Aktivitätsindizes der ALP vor und nach Applikation von Progesteron (*) bei Ratten des Kollektivs XVI.

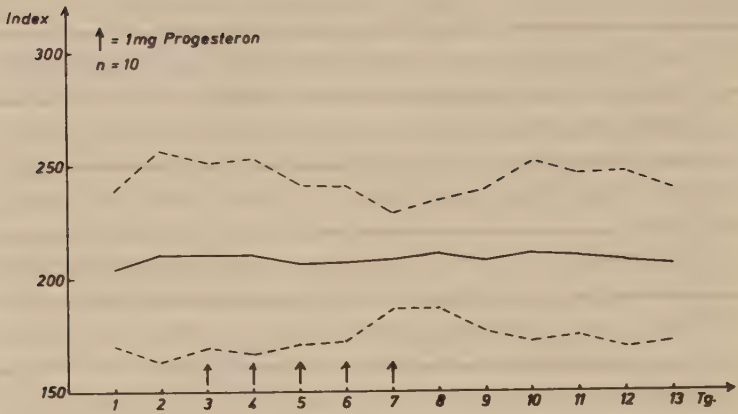


Abb. 6: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von Progesteron bei Ratten des Kollektivs II. Der 2s-Bereich ist angegeben.

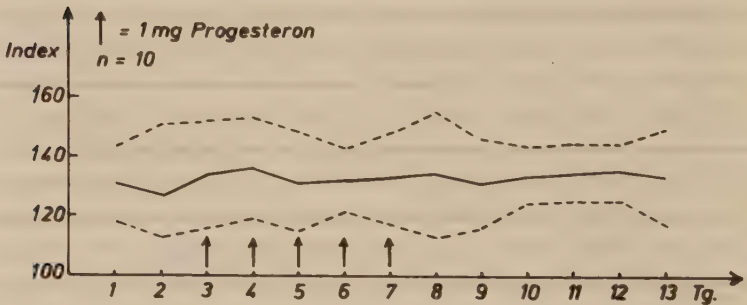


Abb. 7: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von Progesteron bei Ratten des Kollektivs XVI. Der 2s-Bereich ist angegeben.

Die Verabfolgung von 0,002 mg Östradiolbenzoat gemeinsam mit 1 mg Progesteron an fünf aufeinanderfolgenden Tagen führte lediglich zu einem sehr geringen Aktivitätsanstieg. Die mittleren Ausgangswerte der weiblichen und männlichen Ratten betrugen 214,4 bzw. 154,7 Index-Einheiten (Tabelle IX und X, Abbildung 8 und 9).

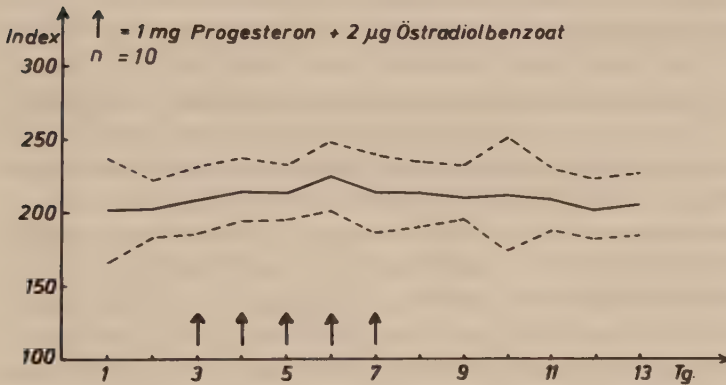


Abb. 8: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von Progesteron gemeinsam mit Östradiolbenzoat bei Ratten des Kollektivs III. Der 2s-Bereich ist angegeben.

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	227	203	199	183	213	230	205	185	179	193
2	214	207	203	187	205	212	214	191	193	199
3*	219	215	217	201	212	221	219	193	189	206
4*	230	211	205	203	221	233	225	214	205	221
5*	217	201	221	197	215	223	219	223	200	223
6*	229	214	219	208	222	245	231	230	216	241
7*	205	206	208	213	218	237	201	227	198	229
8	198	199	210	204	216	231	209	223	216	221
9	211	195	210	196	208	229	210	225	200	209
10	235	221	199	188	203	251	205	219	196	212
11	209	209	213	200	211	232	197	222	198	206
12	205	213	205	202	203	219	183	205	189	201
13	219	205	203	198	215	227	193	197	201	202

Tab. IX: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat (*) und Progesteron (*) bei Ratten des Kollektivs III.

I n d i c e s

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	154	153	149	155	160	156	148	158	155	163
2	153	159	144	149	160	148	151	154	148	170
3*	160	159	150	156	163	151	149	151	149	153
4*	161	163	155	161	156	157	160	159	153	157
5*	157	163	155	161	159	157	163	160	158	159
6*	160	159	162	157	169	160	159	165	155	161
7*	153	154	149	160	161	155	157	151	157	149
8	157	160	153	158	157	157	153	159	158	153
9	155	156	160	161	154	165	160	161	163	159
10	160	161	155	156	161	161	161	159	156	161
11	163	159	161	158	162	160	159	158	170	160
12	158	157	154	147	161	155	157	163	149	158
13	155	158	164	160	159	156	158	157	153	154

Tab. X: Aktivitätsindizes der ALP vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat (*) und Progesteron (*) bei Ratten des Kollektivs XVII.

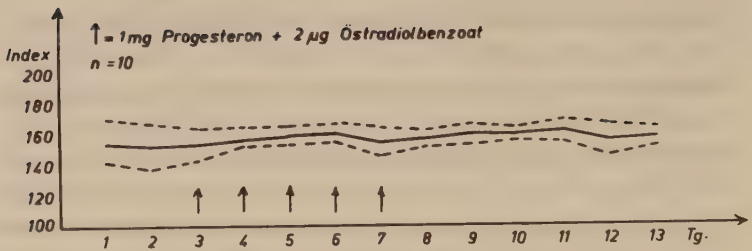


Abb. 9: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von Progesteron gemeinsam mit Östradiolbenzoat bei Ratten des Kollektivs XVII. Der 2s-bereich ist angegeben.

b. Applikation von Gonadotropinen

5 IE PMS, an vier aufeinanderfolgenden Tagen appliziert, führte zu einem signifikanten Aktivitätsanstieg bei den nicht operierten Tieren des Kollektivs VII. Die ovariektomierten und hysterektomierten Ratten des Kollektivs IV zeigten hingegen keine wesentlichen Aktivitätsänderungen. Der mittlere Ausgangswert betrug beim Kollektiv IV 303,7 und beim Kollektiv VII 236,8 Index-Einheiten. Das mittlere Index-Maximum im Kollektiv VII lag bei einem Index von 304 (Tabelle XI und XII, Abbildung 10 und 11).

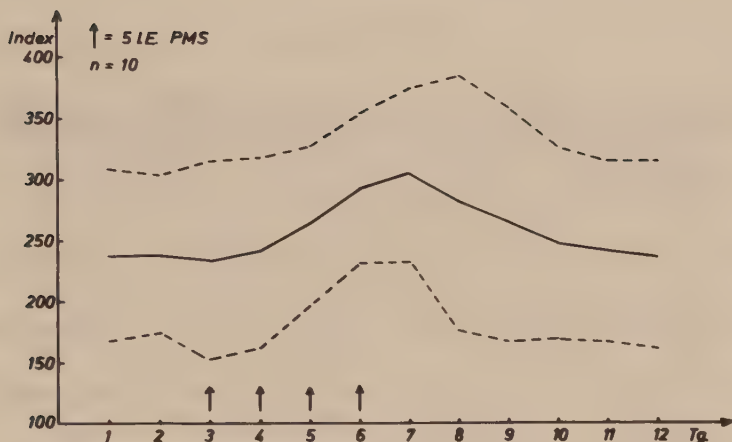


Abb. 10: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von PMS bei Ratten des Kollektivs VII. Der 2s-Bereich ist angegeben.

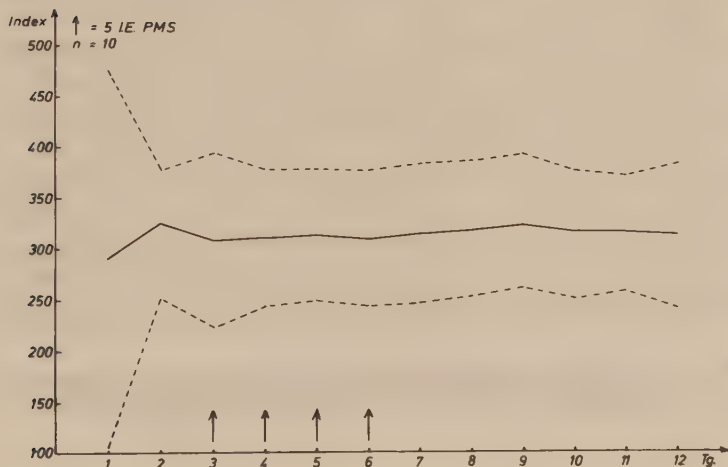


Abb. 11: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von PMS bei Ratten des Kollektivs IV. Der 2s-Bereich ist angegeben.

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	204	227	208	191	230	310	256	239	235	276
2	215	231	221	186	241	291	249	258	217	231
3*	216	216	219	155	237	308	236	263	222	266
4*	205	218	229	182	246	329	249	257	235	259
5*	229	241	243	237	270	338	242	271	269	287
6*	296	239	279	276	307	359	279	282	298	309
7	265	248	301	272	296	366	325	309	342	317
8	256	236	241	205	239	352	320	334	337	289
9	229	222	234	193	229	331	317	307	305	272
10	218	229	232	192	201	305	281	291	276	263
11	212	224	217	199	205	317	267	251	269	264
12	208	217	220	187	215	321	272	240	245	269

Tab. XI: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von PMS (*) bei Ratten des Kollektivs VII.

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	305	348	310	288	323	293	351	303	333	307
2	325	346	291	267	297	301	375	301	342	296
3*	301	360	273	251	263	321	332	296	336	291
4*	307	339	267	262	288	315	376	312	331	299
5*	326	336	284	250	291	312	369	314	329	313
6*	318	345	296	249	275	300	358	302	341	301
7	327	352	288	263	279	309	364	290	348	314
8	335	340	305	254	285	332	371	296	335	323
9	338	335	302	265	291	337	379	315	339	329
10	329	332	279	272	277	322	366	329	328	315
11	336	341	287	289	263	314	359	322	324	298
12	340	350	293	276	249	302	362	307	332	296

Tab. XII: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von PMS (*) bei Ratten des Kollektivs IV.

Die Verabfolgung von 0,5 IE HCG hatte weder bei den ovariectomierten und hysterectomierten Tieren des Kollektivs V noch bei den nicht operierten Ratten des Kollektivs VIII einen signifikanten Aktivitätsanstieg zur Folge (Tabelle XIII und XIV, Abbildung 12 und 13).

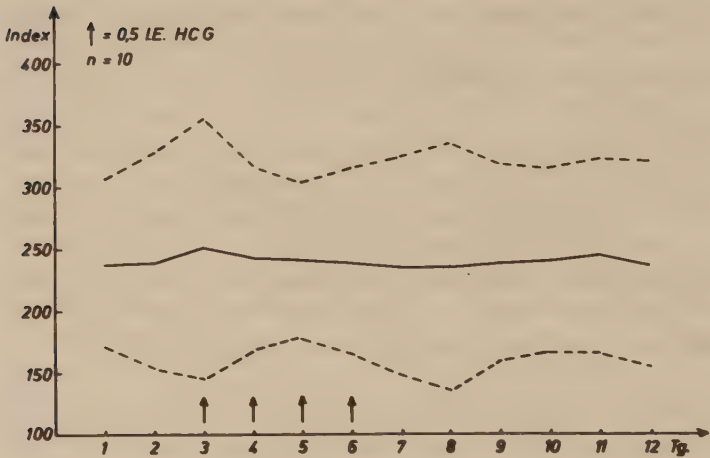


Abb. 12: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von HCG bei Ratten des Kollektivs VIII. Der 2s-Bereich ist angegeben.

I n d i c e s

Tag	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	300	256	239	223	276	201	209	239	191	235
2	332	248	236	215	279	188	212	252	188	242
3*	316	259	345	211	286	136	231	242	185	240
4*	303	272	251	223	282	179	242	239	192	232
5*	291	261	243	239	271	184	229	248	199	235
6*	299	265	229	236	289	191	225	257	139	214
7	314	247	219	321	295	179	233	244	180	219
8	327	236	226	240	291	168	239	228	161	239
9	311	261	241	238	282	189	226	231	178	228
10	316	272	247	227	265	196	218	234	187	241
11	339	260	228	236	262	205	227	243	201	231
12	336	237	222	241	252	184	231	251	195	217

Tab. XIII: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von HCG (*) bei Ratten des Kollektivs VIII.

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	305	317	283	279	325	299	321	285	279	327
2	288	332	299	290	346	290	317	279	291	301
3*	276	316	291	275	352	287	309	268	295	314
4*	285	305	284	281	341	293	322	266	283	329
5*	291	302	296	293	349	307	314	277	286	338
6*	277	314	304	279	331	285	300	293	294	322
7	292	329	291	284	350	273	319	287	270	324
8	299	312	281	286	355	286	332	279	259	308
9	310	319	297	277	329	297	308	291	273	320
10	301	324	294	273	326	309	321	299	283	342
11	284	329	275	281	334	288	335	281	284	349
12	296	309	280	292	342	279	329	272	276	343

Tab. XIV: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von HCG (*) bei Ratten des Kollektivs V.

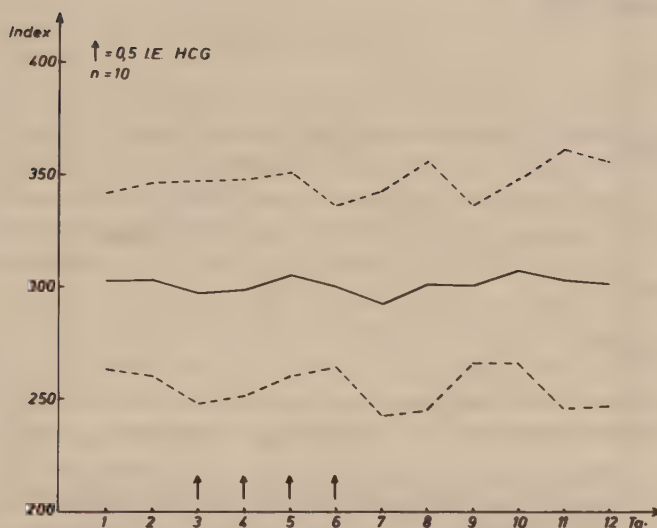


Abb. 13: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von HCG bei Ratten des Kollektivs V. Der 2s-Bereich ist angegeben.

Gemeinsam appliziertes PMS und HCG in der oben genannten Dosierung rief bei den nicht operierten Ratten des Kollektivs IX einen signifikanten Aktivitätsanstieg hervor, der ebenso stark ausgeprägt war wie bei den Tieren des Kollektivs VII, die nur PMS erhalten hatten. Der mittlere Ausgangswert im Kollektiv IX betrug 234,1 Index-Einheiten, das höchste mittlere Maximum 305,1. Bei den ovariectomierten und hysterectomierten Ratten des Kollektivs VI fand sich hingegen kein Aktivitätsanstieg nach der gleichzeitig erfolgten Verabreichung von PMS und HCG (Tabelle XV und XVI, Abbildung 14 und 15).

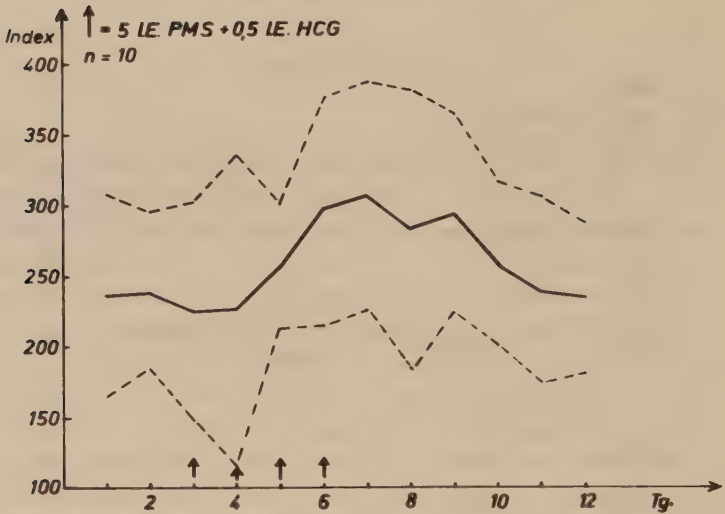


Abb. 14: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von PMS gemeinsam mit HCG bei Ratten des Kollektivs IX. Der 2s-Bereich ist angegeben.

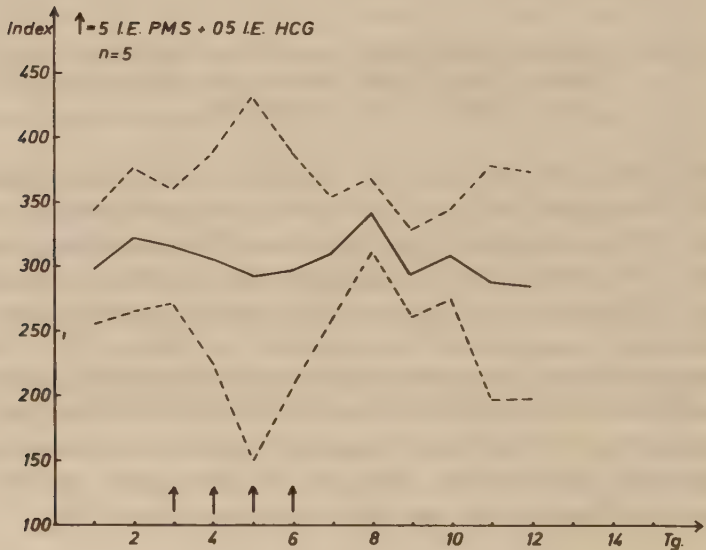


Abb. 15: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von PMS gemeinsam mit HCG bei Ratten des Kollektivs VI. Der 2s-Bereich ist angegeben.

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	313	250	242	223	285	206	231	204	187	243
2	262	223	269	268	267	227	236	221	184	236
3*	235	256	257	284	239	219	206	174	159	226
4*	290	244	265	299	273	194	134	177	189	204
5*	271	233	266	284	286	235	223	246	249	271
6*	263	283	277	386	332	301	242	286	285	313
7	367	336	317	349	294	258	237	308	285	300
8	350	318	333	322	295	277	228	249	203	247
9	302	327	328	314	326	264	218	289	274	281
10	285	291	286	270	282	250	212	231	230	240
11	297	278	263	234	247	223	236	217	193	202
12	270	270	262	220	244	210	231	214	197	219

Tab. XV: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von PMS (*) und HCG (*) bei Ratten des Kollektivs IX.

I n d i c e s

Tag	I	II	III	IV	V
1	318	300	231	273	322
2	334	327	310	280	356
3*	303	349	313	290	323
4*	349	347	288	255	291
5*	352	374	265	261	207
6*	326	358	242	269	294
7	334	321	297	280	319
8	340	355	343	316	345
9	304	312	274	280	306
10	297	321	297	298	334
11	323	306	212	287	318
12	317	308	214	276	313

Tab. XVI: Aktivitätsindizes der ALP vor und nach Applikation von PMS (*) und HCG (*) bei Ratten des Kollektivs VI.

c. Applikation von thyreotropem Hormon und Östradiolbenzoat

Einen starken Aktivitätsanstieg wiesen die Ratten des Kollektivs X auf, denen an fünf aufeinanderfolgenden Tagen jeweils 2 IE thyreotropen Hormons verabfolgt worden war. Der mittlere Ausgangswert betrug 268,2 Index-Einheiten, das Index-Maximum war bei 389 erreicht (Tabelle XVII und Abbildung 16).

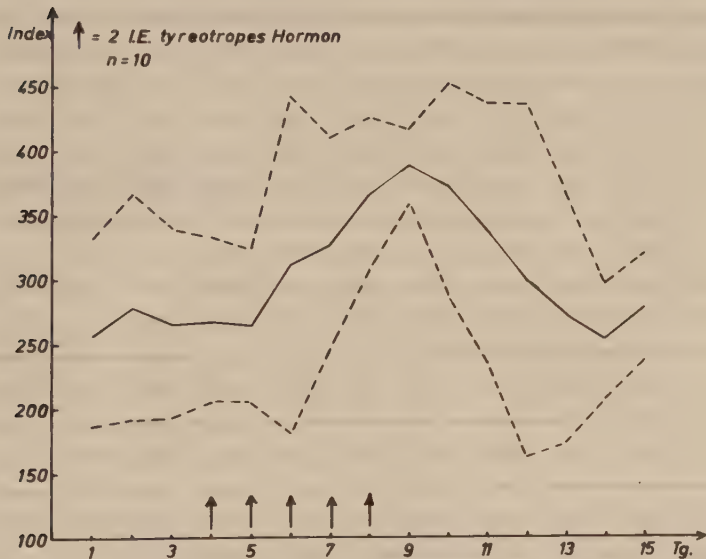


Abb. 16: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon bei Ratten des Kollektivs X. Der 2s-Bereich ist angegeben.

I n d i c e s

Tag	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	272	252	263	272	302	249	323	223	206	220
2	258	285	282	300	391	271	279	250	246	233
3	280	285	291	302	217	260	285	195	243	305
4*	280	285	291	302	217	303	290	231	231	257
5*	237	239	271	271	270	236	320	232	261	308
6*	257	252	259	250	236	404	354	273	361	365
7*	290	286	305	320	259	389	353	358	360	353
8*	333	359	345	397	332	410	335	386	387	383
9	576	376	395	410	395	377	367	404	384	406
10	409	416	383	383	393	309	297	385	343	393
11	389	332	376	378	414	257	298	342	288	306
12	326	346	364	384	383	216	239	279	205	254
13	338	306	302	312	312	227	197	239	215	263
14	257	285	255	244	291	234	266	257	219	233
15	268	248	267	286	268	296	315	288	263	300

Tab. XVII: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon (*) bei Ratten des Kollektivs X.

Die Ergebnisse der Kollektive XI, XII und XIII unterschieden sich nicht wesentlich voneinander. Nach der Applikation von 0,2 IE thyreotropen Hormons über fünf Tage reagierten alle Tiere unabhängig von der vorgenommenen Operation mit einem mäßigen, aber signifikanten Aktivitätsanstieg. Die mittleren Ausgangswerte lagen bei 281,3 bzw. 292,3 bzw. 228,1 Index-Einheiten und stiegen auf Index-Maxima von 325,8 bzw. 320,9 bzw. 279,8 an. Zu einem wesentlich höheren Aktivitätsanstieg führte die fünfmalige Injektion von jeweils 0,2 IE thyreotropen Hormons gemeinsam mit 0,002 mg Östradiolbenzoat in den genannten drei Kollektiven. Die höchsten mittleren Indices lagen bei 420 bzw. 397 bzw. 355,7 (Tabelle XVIII, XIX und XX, Abbildung 17, 18 und 19).

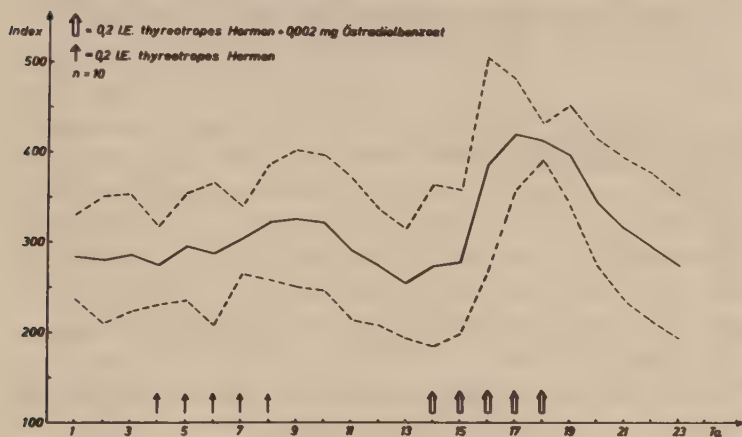


Abb. 17: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon allein und gemeinsam mit Östradiolbenzoat bei Ratten des Kollektivs XI. Der 2s-Bereich ist angegeben.

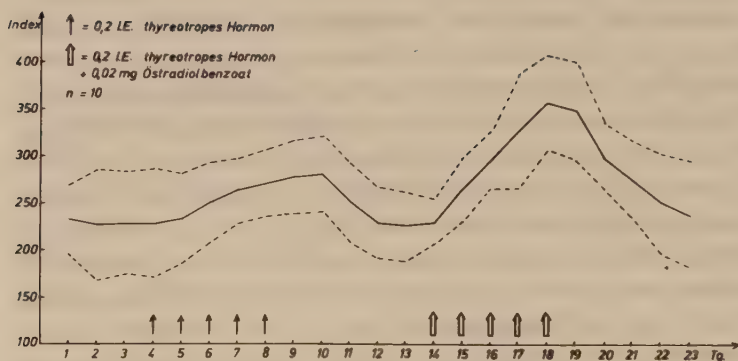


Abb. 18: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon allein und gemeinsam mit Östradiolbenzoat bei Ratten des Kollektivs XIII. Der 2s-Bereich ist angegeben.

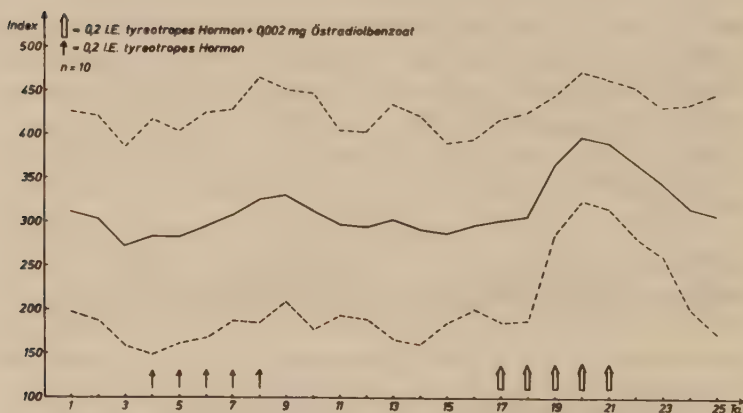


Abb. 19: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon allein und gemeinsam mit Östradiolbenzoat bei Ratten des Kollektivs XII. Der 2s-Bereich ist angegeben.

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	298	243	270	301	261	310	277	319	285	275
2	315	308	294	326	314	256	232	274	248	238
3	304	276	311	306	308	297	242	311	216	293
4*	291	281	254	298	273	316	244	264	257	266
5*	321	280	296	347	284	334	263	281	263	272
6*	324	246	301	351	303	303	218	297	273	258
7*	327	267	315	323	297	309	274	306	299	306
8*	359	271	346	361	285	324	291	317	323	342
9	374	303	359	364	307	325	268	284	307	367
10	369	294	341	346	304	314	252	313	300	381
11	340	224	311	343	246	312	254	292	297	304
12	298	240	259	345	267	287	232	259	263	284

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
13	244	204	226	320	247	261	249	262	262	274
14**	266	259	245	398	256	261	249	262	262	274
15**	302	229	235	371	287	298	270	279	261	264
16**	407	384	409	433	431	411	425	334	343	236
17**	441	428	395	442	427	443	436	447	389	352
18**	419	426	426	406	418	402	426	412	405	396
19	403	409	392	388	386	462	362	417	392	363
20	356	323	344	395	289	384	315	376	315	372
21	314	325	353	404	289	306	266	302	286	326
22	343	295	297	389	274	281	242	283	267	298
23	296	238	252	373	258	294	253	292	241	263

Tab. XVIII: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon (*) allein und gemeinsam mit Östradiolbenzoat (**) bei Ratten des Kollektivs XI.

I n d i c e s

Tag:	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
1	315	348	353	320	321	225	243	405	273
2	346	362	347	332	227	231	279	363	237
3	312	349	267	288	222	204	231	353	221
4*	325	359	336	302	219	201	227	369	216
5*	321	302	335	307	231	225	216	381	213
6*	340	347	354	276	226	249	229	396	243
7*	334	372	359	287	253	261	245	408	256
8*	374	411	404	324	279	229	250	387	267
9	371	380	385	351	339	243	264	392	253
10	368	371	353	330	276	208	232	406	284
11	382	362	336	285	271	228	259	321	249
12	348	341	328	320	265	214	240	353	252
13	363	373	360	326	213	224	257	358	237

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX
14	346	358	367	254	237	217	236	364	240
15	329	347	303	301	224	218	258	356	258
16	359	324	358	276	253	292	250	337	231
17**	371	358	366	246	295	267	241	344	229
18**	352	375	383	262	278	223	290	352	246
19**	366	386	365	422	327	361	335	383	284
20**	459	421	439	373	353	359	393	410	361
21**	425	413	403	365	416	347	361	442	344
22	408	416	392	364	402	283	327	382	353
23	409	387	387	321	359	289	303	351	312
24	381	383	352	324	321	244	232	364	266
25	346	397	381	349	246	223	251	349	243

Tab. XIX: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon (*) allein und gemeinsam mit Östradiolbenzoat (**) bei Ratten des Kollektivs XII.

Indices

Tag	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
1	239	214	228	252	205	237	243	231	209	261
2	203	221	236	237	193	206	276	212	197	273
3	213	219	241	243	190	212	255	222	191	278
4*	229	203	230	242	187	212	263	234	193	279
5*	232	208	237	271	212	216	233	243	201	267
6*	253	236	249	286	235	239	267	249	212	271
7*	263	243	262	293	244	254	273	261	241	283
8*	279	257	268	298	246	261	284	272	249	289
9	291	253	283	309	251	269	294	275	256	294
10	295	264	271	310	265	277	298	267	252	302
11	267	232	226	273	268	234	263	234	231	273
12	231	219	209	260	210	222	252	217	219	254

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
13	224	203	212	253	216	217	240	224	205	250
14**	226	204	219	243	233	227	236	235	218	245
15**	269	243	253	276	238	245	230	289	270	266
16**	277	296	297	291	278	279	325	312	294	293
17**	298	312	363	327	292	283	367	340	313	357
18**	351	344	357	381	324	349	399	347	321	384
19	343	329	354	382	305	348	387	323	332	368
20	302	284	312	313	283	307	313	289	268	317
21	269	246	279	298	251	239	302	281	249	291
22	223	215	261	272	225	242	276	274	228	285
23	201	204	256	271	213	236	261	259	218	273

Tab. XX: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon (*) allein und gemeinsam mit Östradiolbenzoat (**) bei Ratten des Kollektivs XIII.

d. Kontrolltiere

Die Injektionen des Verdünnungsmittels Olivenöl hatten erwartungsgemäß keine signifikanten Aktivitätsänderungen zur Folge (Tabelle XXI, Abbildung 20).

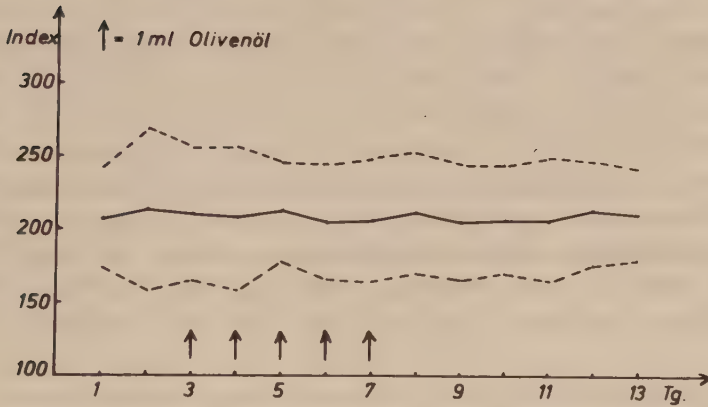


Abb. 20: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von Olivenöl bei Ratten des Kollektivs XIV. Der 2s-Bereich ist angegeben.

Indices

Tage

1	188	201	196	225	193	227	189	235	205	213
2	201	189	199	251	179	231	206	265	201	221
3*	193	205	189	241	175	222	194	245	219	219
4*	184	199	197	245	181	230	186	243	198	218
5*	193	212	207	236	199	228	193	237	221	205
6*	197	196	183	231	192	214	184	238	220	207
7*	198	198	205	239	180	234	181	225	215	201
8	201	204	197	249	201	235	179	229	218	212
9	192	189	198	241	193	211	183	232	203	227
10	196	195	188	229	189	216	189	236	216	229
11	187	203	197	229	190	212	185	251	212	219
12	195	202	212	235	195	219	194	248	219	215
13	200	199	198	231	198	222	196	239	214	217

Tab. XXI: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von Olivenöl (*) bei Ratten des Kollektivs XIV.

B. Versuche am Kaninchen

a. Applikation von Östradiolbenzoat

Die Verabfolgung von 5 mg bzw. 2 mg Östradiolbenzoat an drei aufeinanderfolgenden Tagen hatte bei den Tieren der Kollektive I und II einen signifikanten Anstieg der ALP-Aktivität zur Folge. In der Regel trat dieser bereits 24 Stunden nach der ersten Injektion auf. Vier Tage nach der letzten Hormonapplikation waren die Ausgangswerte nahezu wieder erreicht. Die Aktivitätsnormalwerte bewegten sich beim Kollektiv I im Mittel zwischen Indices von 262 und 268, beim Kollektiv II zwischen 262 und 267. Sie erreichten damit mindestens das Zwei- bis Dreifache derjenigen des Menschen und sind in der Größenordnung vergleichbar mit denen der Ratte. Die durchschnittlichen Index-Höchstwerte betrugen beim Kollektiv I 359 und beim Kollektiv II 356 (Tabelle XXII, XXIII, XXIV und XXV, Abbildung 21 und 22).

Die gleichzeitige Bestimmung der Leukozytenzahl pro mm³ ergab uncharakteristische, geringfügige Schwankungen, welche nicht mit den Aktivitätsveränderungen der ALP korrelierten (Tabelle XXII, XXIII, XXIV und XXV, Abbildung 21 und 22).

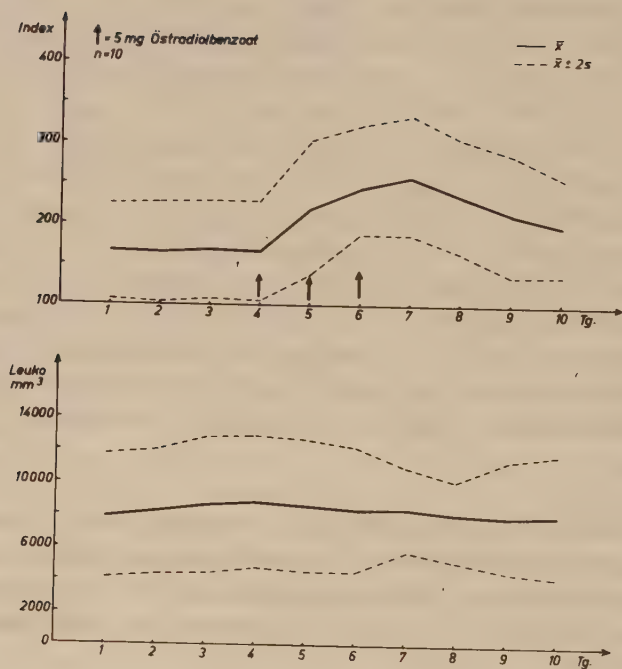


Abb. 21: Mittelwerte₃ der ALP-Indices und der Leukozytenzahlen / mm³ vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat bei Kaninchen des Kollektivs I

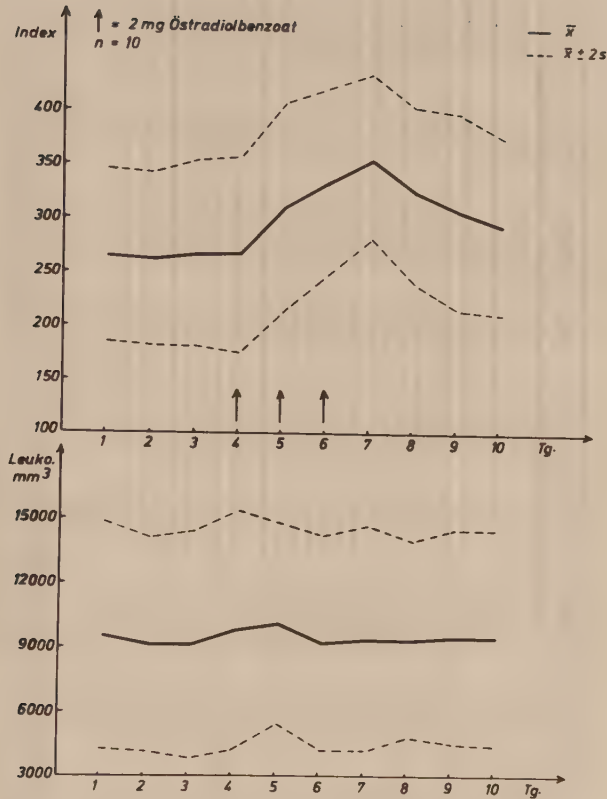


Abb. 22: Mittelwerte³ der ALP-Indices und der Leukozytenzahlen / mm³ vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat bei Kaninchen des Kollektivs II.

Tage	I		II		III		IV		V	
1	258	10000	226	6700	251	7800	314	7800	248	12000
2	248	9700	224	6100	256	9900	307	8700	232	3800
3	259	11800	226	7000	269	9600	298	8300	242	9600
4**	246	10200	234	8100	286	10200	312	9100	242	10200
5**	358	9100	224	7800	354	10000	338	8800	322	10400
6**	369	10500	276	6900	376	10100	384	9000	326	3500
7	332	8900	304	7200	322	9300	392	8900	306	1600
8	358	7300	282	5800	353	9500	360	9500	268	10100
9	316	8100	256	6000	351	8800	356	9600	259	10400
10	308	8200	272	6100	302	9800	324	8700	256	10800
	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L

Tab. XXII: ALP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs I vor und nach Applikation von 3 x 3,5 mg Östradiolbenzoat (**).
I = Index, L = Leukozytenzahl/mm³.

Tag	VI		VII		VIII		IX		X
1	283	8500	306	5200	225	8800	276	4700	268 9500
2	289	9300	312	6100	238	8100	268	4600	257 9900
3	314	10000	302	5500	238	9600	283	5200	251 9300
4**	288	9200	297	5300	219	10500	284	5100	260 10400
5**	356	9000	332	5400	291	10200	318	4800	293 10700
6**	374	8900	364	6300	336	9100	381	4400	344 9200
7	369	9300	396	6900	348	8800	394	5700	381 9400
8	356	8900	360	7200	309	8900	333	6100	352 8700
9	338	7700	343	6800	286	8600	298	4900	307 9100
10	342	8400	327	6100	249	8400	291	4700	292 9500
	I	L	I	L	I	L	I	L	I L

Tab. XXIII: ALP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs I vor und nach Applikation von 3×5 mg Östradiolbenzoat (*).
I = Index, L = Leukozytenzahl/mm³.

Tag	I		II		III		IV		V	
1	292	11800	284	11700	339	8200	235	11200	257	9200
2	289	12200	275	11300	341	6800	230	11700	261	8900
3	314	11200	286	13400	352	7700	242	10900	251	8801
** 4	276	13800	303	12300	356	8300	239	12100	248	9000
** 5	350	12800	324	14400	402	7200	276	12700	284	9700
** 6	390	14100	364	9800	384	6700	305	10800	309	9500
7	386	13500	380	10600	402	6900	327	11500	360	8300
8	374	12900	330	9400	392	7500	302	11400	315	8100
9	366	13000	346	9700	342	7900	281	11800	296	8900
10	358	12100	306	10800	348	7100	266	12300	281	9300
	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L

Tab. XXIV: ALP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs II vor und nach Applikation von $\text{3}_3\text{x}$ 2 mg Östradiolbenzoat (*).
I = Index, L = Leukozytenzahl/mm³.

Tage	VI		VII		VIII		IX		X	
1	228	6500	214	5200	305	13100	249	10800	235	7000
2	226	6300	218	5600	302	11700	254	9200	223	7400
3	235	6900	219	5100	295	11900	246	8700	231	6500
4**	239	7400	207	5900	314	12800	242	9700	239	6700
5**	277	7100	256	6700	367	13500	291	9800	272	7100
6**	312	6200	281	6400	392	11200	299	9500	307	7900
7	330	6800	304	6800	412	12700	317	10200	344	6800
8	298	7900	276	7300	381	13200	272	9200	316	7200
9	267	8200	254	5900	377	13400	261	8900	292	7300
10	259	8500	248	4900	336	12500	257	9500	278	7500
	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L

Tab. XXV: ALP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs II vor und nach Applikation von 33×2 mg Östradiolbenzoat (**).
I = Index, L = Leukozytenzahl/mm³.

b. Applikation von Östradiolbenzoat nach vorangegangener Bestrahlung

Die Applikation von 5 mg bzw. 2 mg Östradiolbenzoat an drei aufeinanderfolgenden Tagen führte bei den bestrahlten Kaninchen der Kollektive III und IV zu keinem Anstieg der ALP-Aktivität. Die durchschnittlichen Indices der Ausgangswerte lagen beim Kollektiv III zwischen 241 und 260, beim Kollektiv IV zwischen 265 und 281. Die Mittelwerte der Indices vom ersten bis dritten Tag nach der ersten Hormoninjektion bewegten sich zwischen 253 und 257 beim Kollektiv III, zwischen 272 und 281 beim Kollektiv IV (Tabelle XXVI, XXVII, XXVIII und XXIX, Abbildung 23 und 24).

Auffallend war dagegen eine erhebliche Leukozytendepression. Von durchschnittlichen Ausgangswerten zwischen 7840 und 8670 Leukozyten pro mm^3 an den ersten drei Tagen gingen die Leukozyten am zweiten Tag nach der Bestrahlung im Mittel auf 2340 pro mm^3 beim Kollektiv III bzw. 1880 pro mm^3 beim Kollektiv IV zurück. Während der folgenden Tage war eine stetige Zunahme der Leukozyten zu beobachten. Damit unterschied sich das Verhalten der Leukozyten grundlegend von dem der alkalischen Leukozytenphosphatase (Tabelle XXVI, XXVII, XXVIII und XXIX, Abbildung 23 und 24).

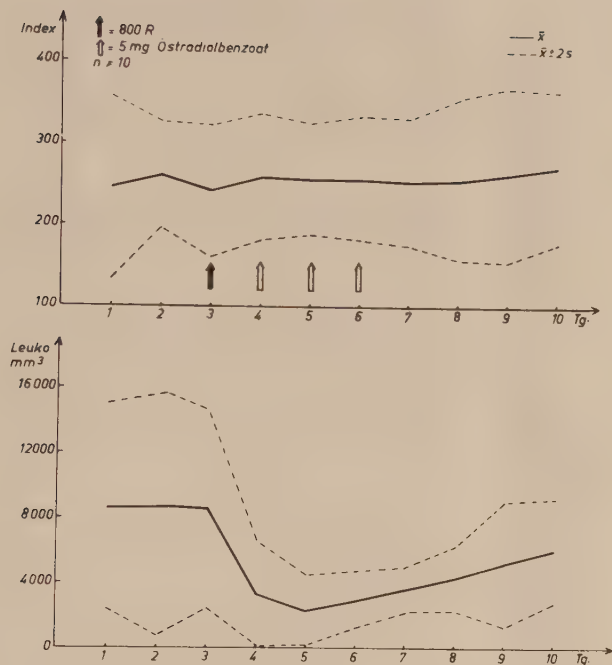


Abb. 23: Mittelwerte der ALP-Indices und der Leukozytenzahlen / mm³ vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat bei bestrahlten Kaninchen des Kollektivs III.

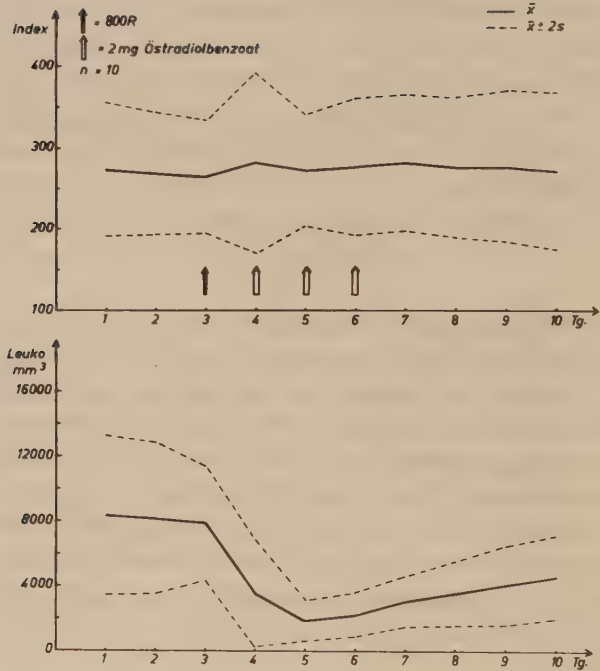


Abb. 24: Mittelwerte der ALP-Indices und der Leukozytenzahlen / mm^3 vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat bei bestrahlten Kaninchen des Kollektivs IV.

Tag	I		II		III		IV		V	
1	289	4700	261	12800	273	7800	332	10800	118	5500
2	276	4300	246	13900	263	8100	324	10000	206	5300
3*	232	4500	200	12000	280	6900	300	10300	178	5600
4**	268	2000	296	3300	282	2300	320	3900	204	2500
5**	248	1200	300	3100	274	3900	302	4000	206	1100
6**	253	1800	268	3400	264	4100	344	4300	208	1600
7	286	3000	262	4700	288	4400	322	2900	190	2600
8	324	3600	289	4600	288	4500	326	3900	176	2700
9	288	4000	324	3100	280	5300	330	4700	168	2400
10	302	5000	346	4900	264	6200	320	6200	234	3600
	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L

Tab. XXVI: ALP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs III vor und nach Bestrahlung mit 800 R (*) und Applikation von 3 x 5 mg Östradiolbenzoat (**).³
I = Index, L = Leukozytenzahl/mm³

Tage	VI		VII		VIII		IX		X	
1	234	12300	240	6300	263	8200	212	5400	224	11800
2	274	14000	268	7200	272	7600	228	5300	239	11000
3*	210	12600	252	7300	261	7700	216	5600	228	12300
4**	288	7500	249	1900	254	2300	208	2800	219	4200
5**	256	2200	262	1300	272	1800	206	1700	232	3100
6**	260	3000	241	2600	268	3200	214	2600	241	2800
7	254	3000	229	3500	249	3700	223	3200	227	4200
8	240	4200	236	4100	255	4300	213	4100	223	6100
9	300	5600	240	5200	269	6800	205	4900	216	9100
10	309	6000	238	5700	272	6900	207	5500	219	9800
	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L

Tab. XXVII: ALP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs III vor und nach Bestrahlung mit 800 R (*) und Applikation von 3 x 5 mg Östradiolbenzoat (**).³
 I = Index, L = Leukozytenzahl/mm³

Tag	I		II		III		IV		V	
1	316	11200	296	8700	248	6900	281	8600	249	12600
2	268	11500	252	9400	254	7200	296	8400	256	11200
3*	260	8600	246	8200	261	7300	291	9200	245	11300
4**	392	1900	334	2400	249	6100	287	5100	247	6200
5**	312	1200	288	1900	252	3200	286	2600	251	2200
6**	326	1700	324	2100	257	2100	295	3200	238	3100
7	322	2100	344	2400	261	3400	278	4700	240	3700
8	348	2100	300	2200	242	4500	269	5200	235	4300
9	362	2200	322	2300	231	4000	273	5400	231	5500
10	370	2900	326	3100	229	3700	275	5800	254	6700
I L I L I L I L I L										

Tab. XXVIII: ALP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs IV vor und nach Bestrahlung mit 800 R (*) und Applikation von 3 x 2 mg Östradiolbenzoat (**). 3
 I ■ Index, L = Leukozytenzahl/mm³

Tage	VI		VII		VIII		IX		X	
1	318	7800	216	9600	257	4700	297	5100	231	8200
2	342	6900	227	9700	271	4900	309	4800	218	7600
3*	326	7200	221	8300	262	5200	312	5400	227	7700
4**	319	3100	214	2700	254	2200	299	2500	224	3100
5**	327	1700	217	1300	264	1100	287	1600	235	2000
6**	316	2000	209	2500	262	900	304	1800	233	2500
7	320	2900	222	3200	258	2100	316	2700	247	3200
8	331	3200	236	3600	245	2900	309	3200	241	3900
9	328	3700	227	4700	252	3400	289	3900	238	5100
10	224	4000	220	5100	268	3700	294	4200	244	5300
	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L

Tab. XXIX: ALP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs IV vor und nach Bestrahlung mit 800 R (*) und Applikation von 3 x 2 mg Östradiolbenzoat (**). 3
I = Index, L = Leukozytenzahl/mm³

c. Kontrolltiere

Bei den Tieren des Kollektivs V, die lediglich bestrahlt wurden, wies die ALP nach der Bestrahlung keine Aktivitätsänderung auf. Die Indices der Ausgangswerte schwankten im Mittel zwischen 258 und 259. Während der ersten sechs Tage nach der Bestrahlung lagen die Index-Mittelwerte zwischen 259 und 272 (Tabelle XXX und XXXI, Abbildung 25).

Erneut kam es jedoch zu einem starken Leukozytenabfall. Von Durchschnittswerten zwischen 8320 und 8470 an den drei Ausgangstagen gingen die Leukozyten pro mm^3 auf 1940 am dritten Tag nach der Bestrahlung zurück (Tabelle XXX und XXXI, Abbildung 25).

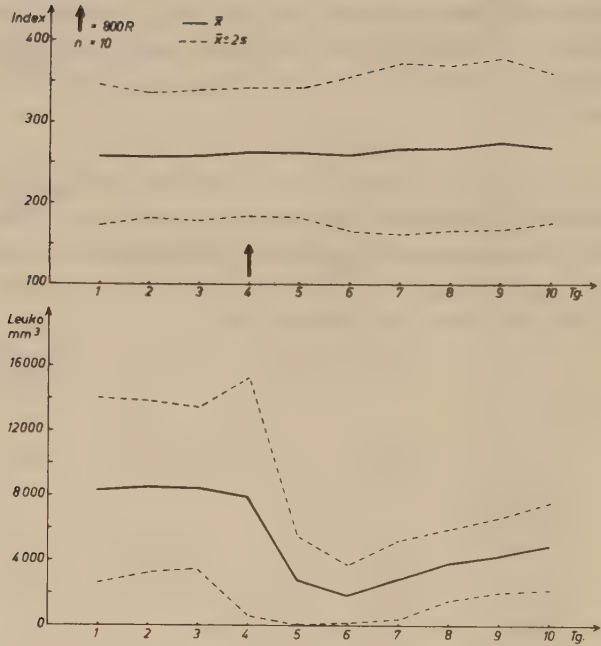


Abb. 25: Mittelwerte der ALP-Indices und der Leukozytenzahlen / mm³ bei bestrahlten Kaninchen des Kollektivs V.

Tag	I		II		III		IV		V	
1	272	7500	288	6000	236	11600	214	8600	306	5700
2	242	8400	278	7000	245	11400	227	7800	312	5600
3*	236	9900	298	6000	227	12300	219	7900	301	6100
4	270	12300	270	14800	246	3400	229	5400	324	5400
5	258	5200	296	4600	238	2700	222	1700	316	2100
6	244	2000	300	1500	226	3100	209	2200	331	1600
7	334	2200	310	700	235	3900	212	2900	327	3200
8	326	3100	325	1900	241	4500	227	3400	328	3700
9	326	4000	346	2300	239	5300	234	4000	330	3900
10	302	4600	324	2900	238	5900	227	4200	318	4300
	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L

Tab. XXX: ALP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs V vor und nach Bestrahlung mit 800_R (*).
I = Index, L = Leukozytenzahl/mm

Tage	VI		VII		VIII		IX		X	
1	247	13800	337	7900	230	8100	193	9800	263	4200
2	259	13400	326	7300	216	8900	212	9900	262	4500
3*	239	11800	325	8400	227	8300	216	9000	251	4500
4	246	9700	329	8200	236	7700	205	8200	259	3900
5	258	3600	318	3100	229	2300	202	1200	269	1200
6	253	3700	332	1200	220	2100	217	900	253	1100
7	246	4200	325	1900	209	4500	213	3100	247	1700
8	238	4700	319	3800	215	5200	207	4700	236	2200
9	229	5600	322	4300	223	5700	216	5400	251	2900
10	235	6700	329	5200	219	6500	222	5600	248	3200
	I	L	I	L	I	L	I	L	I	L

Tab. XXXI: LP-Indices und Leukozytenzahlen von 5 Kaninchen des Kollektivs V vor und nach Bestrahlung mit 800_{R} (*).
I = Index, L = Leukozytenzahl/mm

3. Experimentelle Untersuchungen an Frauen

A. Patientinnen ohne Ovarialfunktion

a. Applikation von thyreotropem Hormon und Östradiolbenzoat

Die Verabfolgung von 10 IE thyreotropen Hormons an drei aufeinanderfolgenden Tagen führten zu keinem Aktivitätsanstieg der ALP. Es wurden lediglich tägliche Aktivitätsschwankungen festgestellt, die nicht größer waren als die Schwankungen innerhalb der Ausgangswerte (Tabelle XXXII und Abbildung 26).

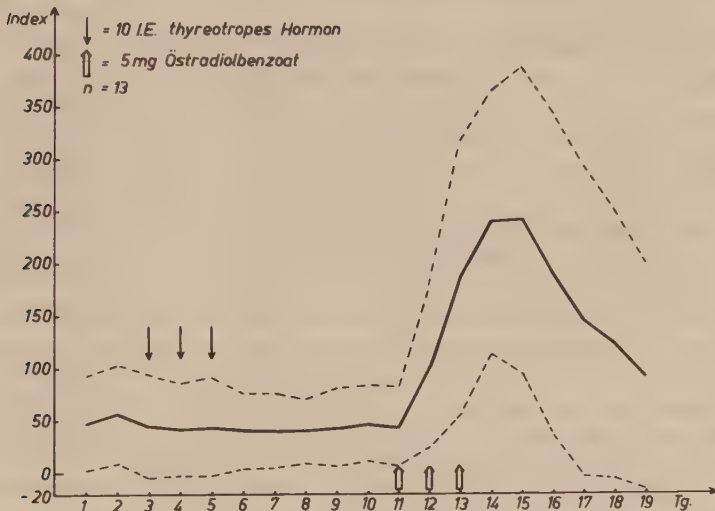


Abb. 26: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon bzw. Östradiolbenzoat bei Frauen.

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII	XIII
1	36	68	48	24	63	81	31	7	69	48	24	78	51
2	43	79	42	66	46	83	33	12	91	64	38	84	59
3*	23	71	71	48	72	52	8	5	38	28	29	69	69
4*	32	54	34	29	59	76	14	14	42	21	31	79	63
5*	17	28	57	36	54	91	76	12	46	33	23	62	38
6	25	36	50	41	54	81	24	18	28	19	37	51	57
7	32	30	67	44	49	64	51	5	36	25	18	54	46
8	21	50	62	48	50	48	30	7	35	37	29	59	39
9	19	61	73	53	41	57	48	4	25	36	41	48	52
10	27	49	72	57	36	51	42	5	37	49	52	68	63
11**	41	53	86	46	22	62	39	11	34	33	43	62	44
12**	93	96	79	173	86	164	64	78	115	88	67	63	159
13**	160	219	187	186	181	299	78	89	261	162	182	146	281
14	266	256	236	222	207	333	191	105	293	197	292	196	324
15	302	243	286	164	240	337	212	61	296	231	306	187	271
16	317	203	193	129	200	302	97	42	187	183	271	141	205
17	281	160	66	108	146	256	81	19	124	171	218	107	151
18	263	138	88	79	117	221	85	12	99	141	153	89	111
19	217	127	41	62	96	169	59	10	61	92	101	78	87

Tab. XXXII: Aktivitätsindizes der ALP vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon (*) und Ostradiolbenzoat (**) bei 13 Frauen.

Die mittleren Ausgangswerte und die mittleren Indices während der sechs Tage nach der ersten Hormonapplikation sind aus Tabelle XXXIII zu entnehmen.

Pat.	Mittelwert der Ausgangsindices n = 3		Mittelwert der Indices nach Hormonapplikation n = 6	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	34	10,15	24,3	6,5
2	72,7	5,69	43,2	13,69
3	53,7	15,31	57,12	13,85
4	46	21,07	41,8	8,56
5	60,3	13,2	51,2	6,11
6	72	17,35	69,5	16,03
7	24	13,89	40,5	22,4
8	8	3,61	10	5,55
9	66	26,63	35,3	7,99
10	46,7	18,04	28,5	7,84
11	30,3	7,09	29,8	8,54
12	77	7,55	58,8	11,12
13	59,7	9,02	48,7	9,2

Tab. XXXIII: Mittelwerte der ALP-Indices vor und nach Applikation von thyreotropem Hormon.

Ein signifikanter Aktivitätsanstieg trat hingegen nach der dreimalig durchgeführten Verabfolgung von 5 mg Östradiolbenzoat ein (Abbildung 26). Die vermehrte Enzymaktivität konnte meistens bereits nach 24 Stunden festgestellt werden (Tabelle XXXII). Die mittleren Ausgangswerte aus den letzten drei Bestimmungen vor der Hormonapplikation und die Index-Maxima gehen aus Tabelle XXXV hervor.

Pat.	Mittelwert der Ausgangsindices n = 3		Index-Maximum
	$\bar{x}$	s	
1	29	11,14	317
2	54,3	6,11	256
3*	77	7,81	286
4*	52	5,57	222
5*	33	9,85	240
6	57,7	4,04	337
7	43	4,58	212
8	6,7	3,79	105
9	32	6,24	296
10	39,3	8,5	231
11	45,3	5,86	306
12	59,3	10,26	196
13	53	9,54	324

Tab. XXXV: Mittlerer Ausgangs-Index und Index-Maximum nach Applikation von Östradiolbenzoat (*).

b. Applikation von Progesteron

Die Verabfolgung von 10 mg Progesteron an drei aufeinanderfolgenden Tagen hatte keinen signifikanten Anstieg der Enzymaktivität zur Folge (Abbildung 27). Die täglichen Aktivitätsschwankungen bewegten sich innerhalb der Schwankungsbreite der Ausgangswerte (Tabelle XXXIV).

Indices

Tage	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI	XII
1	36	51	24	89	84	39	48	62	31	78	22	41
2	42	47	29	73	79	33	39	69	25	29	29	49
3*	33	62	41	86	79	42	32	68	17	39	32	35
4*	32	67	50	69	81	31	46	88	28	56	27	27
5*	41	53	23	72	86	33	47	72	33	38	35	38
6	26	62	35	82	67	38	38	63	42	25	18	39
7	29	69	26	84	70	30	26	81	19	34	29	26
8	38	37	23	61	74	42	29	92	26	32	24	29
9	28	43	39	58	91	51	24	94	32	48	19	35
10	40	59	33	74	98	38	39	78	19	36	29	32
11	42	52	36	79	82	43	31	62	28	53	36	23
12	37	60	21	66	86	41	26	73	40	46	34	31

Abb. XXXIV: Aktivitätsindices der ALP vor und nach Applikation von Progesteron (*) bei 12 Frauen.

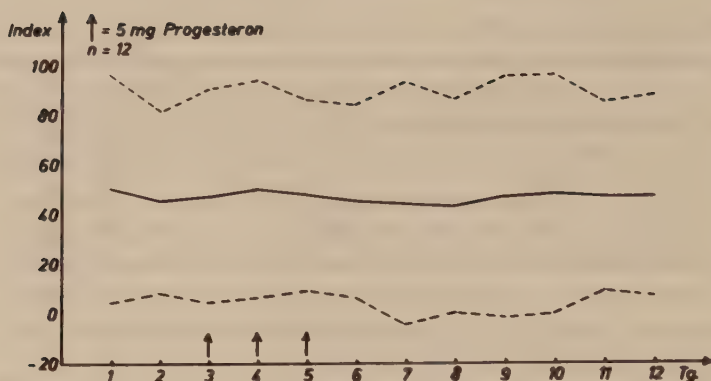


Abb. 27: Index-Mittelwerte der ALP vor und nach Applikation von Progesteron bei Frauen.

Die mittleren Ausgangsindices und die mittleren Indices bis zu sechs Tagen nach der Hormonapplikation, sind in Tabelle XXXVII dargestellt.

Pat.	Mittlere Ausgangsindices n = 3		Mittlere Indices nach Hormonapplikation n = 6	
	$\bar{x}$	s	$\bar{x}$	s
1	37	4,58	32,3	5,95
2	53,5	7,77	55,2	13,12
3*	31,3	8,74	33,5	10,01
4*	82,7	8,5	71	10,62
5*	80,7	2,89	78,27	9,41
6	38	4,58	37,5	8,02

7	39,7	8,02	35	10,12
8	66,3	3,79	81,7	12,18
9	24,3	7,02	30	7,72
10	48,7	25,89	38,8	11,3
11	27,7	5,13	25,3	6,4
12	41,7	7,02	32,3	5,71

Tab. XXXVII: Mittelwerte der ALP-Indices vor und nach Applikation von Progesteron (*).

c. Vergleich zwischen alkalischer Serum- und Leukozytenphosphatase nach Applikation von Östradiolbenzoat

Nach Applikation von 10 mg Östradiolbenzoat an drei aufeinanderfolgenden Tagen bei 15 Frauen trat ein signifikanter Aktivitätsanstieg der ALP ein (Tabelle XXXVI).

Die mittlere ALP-Aktivität nahm von 54,5 mU/ml auf 168,9 mU/ml zu (Abbildung 28). Hingegen zeigte die alkalische Serumphosphatase keine Reaktion auf die Östradiolverabfolgung (Tabelle XXXVI). Die mittlere Aktivität betrug vor bzw. nach der Hormonapplikation 41,4 mU/ml bzw. 42 mU/ml (Abbildung 28).

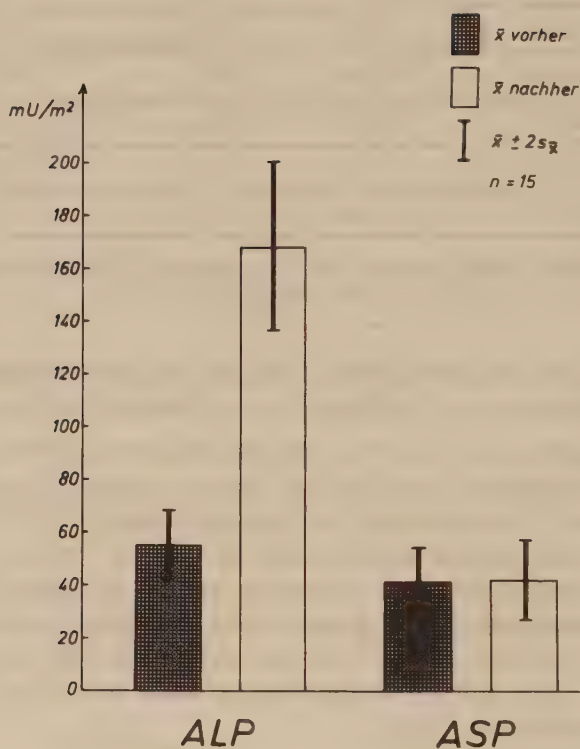


Abb. 28: Mittelwerte der alkalischen Leukozytenphosphatase (ALP) und der alkalischen Serumphosphatase (ASP) vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat.

Pat.	ALP		ASP	
	vorher	nachher	vorher	nachher
1	45	116	32	48
2	68	270	30	31
3	20	220	28	32
4	37	110	50	44
5	35	200	63	52
6	90	178	122	140
7	46	162	34	35
8	93	216	24	23
9	105	195	38	41
10	48	118	45	46
11	29	138	26	23
12	35	116	37	28
13	41	189	22	20
14	71	213	31	27
15	54	197	39	40

Tab. XXXVI: Aktivitätswerte der alkalischen Leukozytenphosphatase (ALP) und der alkalischen Serumphosphatase (ASP) in mU/ml vor und nach Applikation von Östradiolbenzoat.

B. Gesunde Frauen mit und ohne hormonale Kontrazeption

Von den 31 untersuchten Zyklen der 18 regelmäßig menstruierten Frauen ohne hormonale Kontrazeption wiesen 26 einen zweigipfeligen Aktivitätsverlauf auf (Tabelle XXXIX, XL und XLI, Abbildung 29 bis 34). Die durchschnittliche Zyklusdauer betrug 28,1 Tage. Das erste Aktivitätsmaximum war im Mittel nach 15,6 Tagen, das zweite nach 24,3 Tagen erreicht. Die Indices des ersten Maximum schwankten zwischen 43 und 168, der Mittelwert betrug 107,5. Die Indices des zweiten Maximum bewegten sich zwischen 19 und 110 und ergaben einen Mittelwert von 68,2. Die Basaltemperaturkurven zeigten in allen Zyklen der Probandinnen I bis XVII einen biphasischen Verlauf (Tabelle XLII, XLIII und XLIV). Das Temperaturtief trat im Durchschnitt nach 14,1 Tagen auf, 1 1/2 Tage vor dem ersten Aktivitätsmaximum.

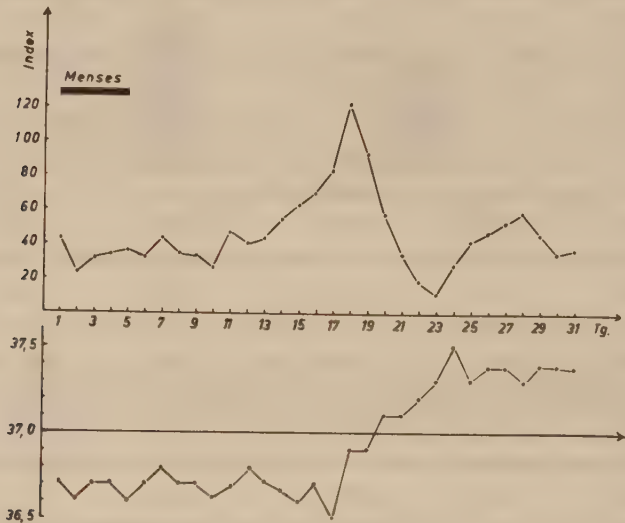


Abb. 29: Aktivitätsverlauf der ALP und Basaltemperaturkurve im hormonell unbeeinflussten Zyklus der Probandin I.

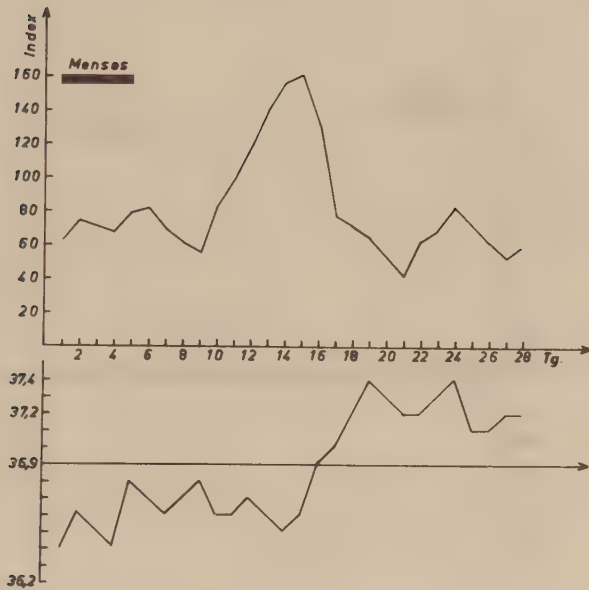


Abb. 30: Aktivitätsverlauf der ALP und Basaltemperaturkurve im ersten hormonell unbeeinflussten Zyklus der Probandin VI.

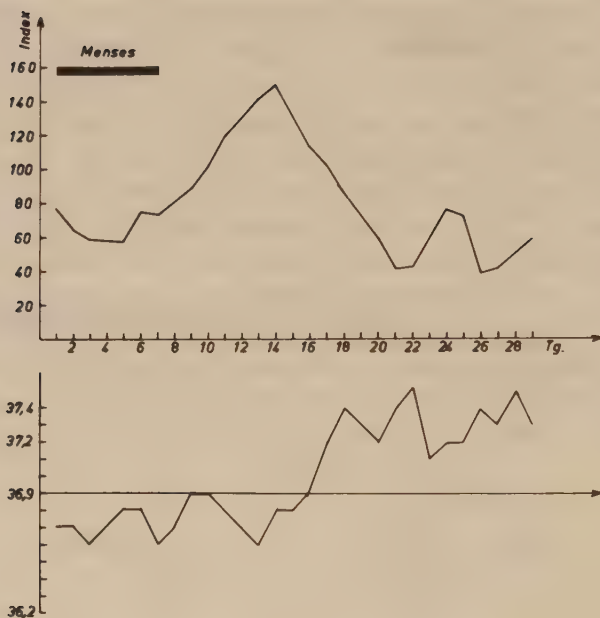


Abb. 31: Aktivitätsverlauf der ALP und Basaltemperaturkurve im zweiten hormonell unbeeinflussten Zyklus der Probandin VI.

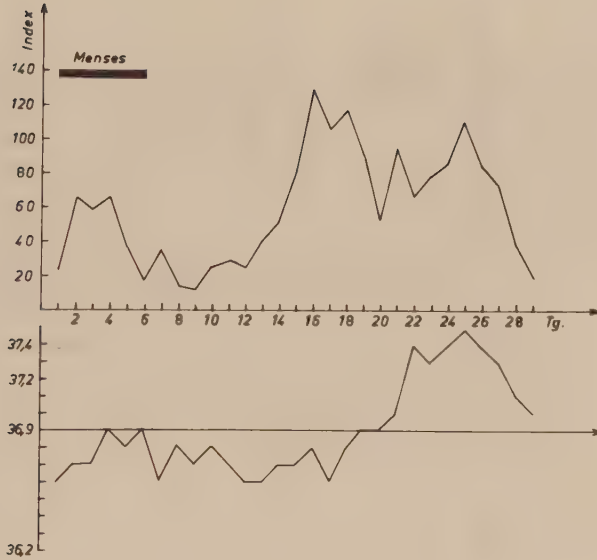


Abb. 32: Aktivitätsverlauf der ALP und Basaltemperaturkurve im hormonell unbeeinflussten Zyklus der Probandin II.

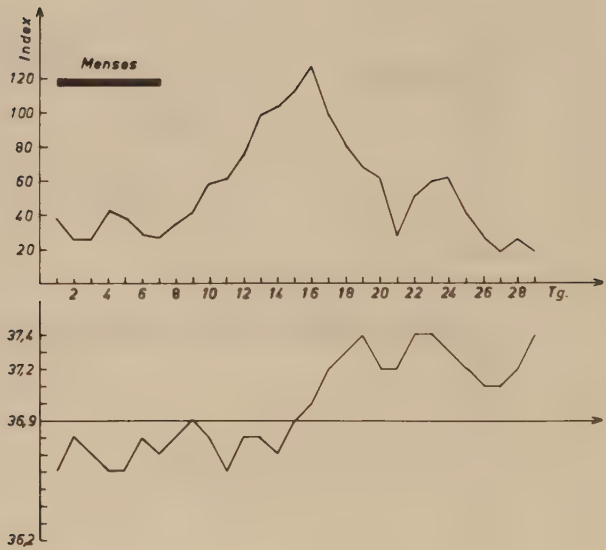


Abb. 33: Aktivitätsverlauf der ALP und Basaltemperaturkurve im ersten hormonell unbeeinflussten Zyklus der Probandin VII.

Index

Tage	I		II		III		IV		V	
1	43	46	49	24	42	14	20	19	72	76
2	24	32	26	66	31	18	34	11	58	65
3	32	35	19	59	54	14	26	33	45	71
4	35	23	11	66	28	10	18	26	42	58
5	37	38	18	36	36	8	12	46	40	47
6	33	29	10	18	17	7	21	40	45	43
7	44	37	20	35	22	18	9	32	28	39
8	35	45	34	15	9	20	17	34	27	47
9	34	24	32	12	40	27	20	37	34	38
10	27	27	40	26	86	31	21	54	41	77
11	48	56	36	29	82	48	40	44	40	70
12	42	65	52	25	113	36	61	50	60	114
13	44	93	52	41	97	49	56	36	59	60
14	55	112	61	52	126	81	85	63	75	40
15	63	91	126	32	73	115	75	78	87	77
16	70	66	145	131	33	102	41	56	106	45
17	83	61	132	107	30	96	59	22	126	55
18	123	53	122	117	40	89	34	26	87	46

Index

Tag	I		II		III		IV		V	
19	93	32	99	90	30	75	31	16	66	63
20	58	48	83	54	36	55	39	12	80	74
21	35	40	66	95	30	58	43	16	67	36
22	10	24	84	66	5	51	43	19	77	57
23	12	37	43	79	33	54	18	30	48	64
24	29	44	77	85	14	30	25	22	61	79
25	43	40	55	110	25	20	20	20	92	93
26	43	32	91	84	12		26	23	47	83
27	54		77	74			20	22	73	70
28	59		105	39					79	52
29	46		49	20					34	53
30	30		37						81	
31	38		33						62	
32										
33										
34										

Tab. XXXIX: ALP-Indices der Probandinnen I bis V
ohne hormonale Kontrazeption.

Index

Tage	VI		VII		VIII		IX		X	
1	56	59	19	25	37	47	52	80	45	34
2	42	52	30	33	22	34	56	85	34	35
3	33	40	45	16	32	20	63	57	36	12
4	24	33	40	9	24	12	72	61	17	13
5	47	34	22	20	30	16	64	64	18	17
6	34	42	13	16	12	3	91	55	41	20
7	30	36	8	12	14	10	32	66	28	19
8	41	38	13	14	22	43	93	53	35	28
9	25	30	10	12	23	18	104	66	30	23
10	39	37	16	19	13	26	130	70	40	44
11	31	30	11	24	25	33	123	108	69	35
12	93	41	16	29	40	28	126	112	65	45
13	55	54	22	41	39	48	168	79	63	27
14	34	57	18	76	34	54	157	62	81	40
15	111	53	30	31	29	97	113	71	95	52
16	122	89	34	78	47	64	103	98	102	45
17	72	54	44	31	58	82	82	79	111	57
18	100	64	76	36	69	64	90	77	99	79

I n d e x

Tage	VI		VII		VIII		IX		X	
19	58	70	57	11	66	48	92	56	72	70
20	63	66	30	32	53	50	97	64	64	90
21	62	56	29	54	43	36	64	63	55	85
22	76	52	30	36	38	48	91	64	53	100
23	76	56	27	35	23	58	76	56	36	97
24	82	50	39	24	28	30	84	62		90
25	67	59	45	15	24	41	70	51		66
26	80	68	30		36	18	47	42		29
27	102	58	23		43		57			50
28	98	65	20		26		53			47
29	95	53			42					50
30	54	50								58
31										70
32										57
33										54
34										50

Tab. XL: ALP-Indices der Probandinnen VI bis X
ohne hormonale Kontrazeption.

Index

Tage	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII
1	41	4	69	32	55	63 77	38 25	28 13
2	47	2	43	41	37	74 65	26 29	17 24
3	43	6	52	26	30	72 59	26 24	14 12
4	34	9	30	13	50	63 53	42 16	6 9
5	27	10	43	21	42	79 53	33 19	12 14
6	34	9	36	13	55	82 75	29 32	15 14
7	36	6	36	19	57	70 74	27 39	30 8
8	17	4	32	27	46	61 81	35 43	44 7
9	21	6	60	29	54	56 89	42 36	20 8
10	20	8	73	10	67	83 102	59 51	10 12
11	23	14	55	9	47	98 119	71 68	76 24
12	26	27	41	19	70	119 130	75 77	10 23
13	39	34	23	75	54	141 141	98 93	17 16
14	43	43	33	34	44	157 149	103 116	17 16
15	52	33	53	64	42	162 131	113 100	23 24
16	47	10	80	65	92	132 112	127 93	10 15
17	39	12	90	25	79	73 101	97 72	3 16
18	54	13	72	8	53	72 86	81 65	16 25

Index

Tag	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI		XVII		XVIII	
19	50	6	111	10	47	65	72	63	51	15	51
20	67	18	75	15	54	54	59	61	33	14	50
21	55	10	79	19	50	42	41	37	39	26	34
22	50	32	70	14	55	63	42	51	58	23	57
23	40	31	90	12	72	79	57	60	59	20	90
24	35	66	74	7	54	32	76	62	44	43	96
25	29	43	69	16	75	71	72	40	32	39	92
26		37	30	8	77	60	39	27	23	43	63
27		23	94	15	72	52	41	19	20	68	44
28		22	81		75	59	49	25	23	64	33
29			66		54		58	29		83	37
30			30		38					90	
31					27					55	
32										52	
33										49	
34										22	

Tab. XLI: ALP-Indices der Probandinnen XI bis XVIII ohne hormonale Kontrazeption.

Tage	I	II	III	IV	V					
1	36,7	36,8	36,8	36,6	36,6	36,7	36,6	36,7	36,6	36,6
2	36,6	36,7	36,8	36,7	36,5	36,7	36,6	36,6	36,6	36,7
3	36,7	36,6	36,6	36,7	36,6	36,6	36,7	36,5	36,7	36,7
4	36,7	36,6	36,7	36,9	36,8	36,7	36,6	36,7	36,8	36,6
5	36,6	36,7	36,7	36,8	36,7	36,7	36,8	36,6	36,7	36,8
6	36,7	36,6	36,7	36,9	36,8	36,8	36,9	36,8	36,7	36,7
7	36,8	36,7	36,6	36,6	36,6	36,9	36,8	36,7	36,6	36,6
8	36,7	36,6	36,8	36,8	36,5	36,8	36,9	36,8	36,7	36,7
9	36,7	36,6	36,6	36,7	36,7	36,8	36,8	36,7	36,8	36,6
10	36,6	36,7	36,6	36,8	36,8	36,7	36,7	36,7	36,8	36,7
11	36,7	36,8	36,7	36,7	36,8	36,8	36,8	36,6	36,6	36,7
12	36,8	36,8	36,7	36,5	36,5	36,7	36,8	36,8	36,7	36,6
13	36,7	36,6	36,8	36,6	36,7	36,7	36,7	36,8	36,8	36,7
14	36,7	36,7	36,7	36,7	36,8	36,6	37,0	36,6	36,7	36,8
15	36,6	36,7	36,5	36,7	36,8	36,8	37,2	36,9	36,5	37,2
16	36,7	36,8	36,5	36,8	36,9	36,9	37,4	37,1	36,6	37,4
17	36,5	36,8	36,7	36,6	37,2	36,9	37,3	37,3	36,7	37,2

Tage	I		II		III		IV		V	
18	36,9	36,9	36,8	36,8	37,4	37,2	37,2	37,4	36,9	37,2
19	36,9	37,2	36,8	36,9	37,3	37,3	37,3	37,5	37,1	37,3
20	37,1	37,4	37,1	36,9	37,4	37,4	37,4	37,4	37,3	37,3
21	37,1	37,5	37,3	37,0	37,4	37,4	37,4	37,5	37,4	37,2
22	37,2	37,6	37,5	37,4	37,3	37,5	37,3	37,5	37,3	37,3
23	37,3	37,5	37,5	37,3	37,5	37,3	37,2	37,3	37,3	37,4
24	37,5	37,6	37,4	37,4	37,4	37,2	37,2	37,2	37,1	37,4
25	37,3	37,6	37,3	37,5	37,4	37,5	37,3	37,1	37,4	37,3
26	37,4	37,5	37,2	37,4	37,3		37,2	37,2	37,5	37,2
27	37,4		37,3	37,3			37,3	37,1	37,3	37,3
28	37,3		37,2	37,1					37,2	37,3
29	37,4		37,3	37,0					37,4	37,4
30	37,4		37,3						37,4	37,4
31	37,4		37,2						37,2	37,4
32										
33										
34										

Tab. XLII: : Basaltemperaturwerte in °Celsius der Probandinnen I bis V ohne hormonale Kontrazeption.

Tage	VI	VII	VIII	IX	X					
1	36,5	36,7	36,7	36,8	36,8	36,9	36,7	36,6	36,7	
2	36,5	36,7	36,8	36,7	36,7	36,9	36,8	36,7	36,7	
3	36,7	36,8	36,7	36,6	36,6	36,9	36,8	36,8	36,7	36,6
4	36,7	36,7	36,6	36,9	36,7	36,8	36,7	36,9	36,6	36,7
5	36,8	36,6	36,7	36,6	36,8	36,8	36,5	36,8	36,5	36,8
6	36,8	36,6	36,6	36,8	36,9	36,8	36,8	36,7	36,9	36,7
7	36,6	36,7	36,6	36,8	36,8	36,7	36,9	36,6	36,5	36,8
8	36,9	36,8	36,7	36,7	36,7	36,6	36,6	36,8	36,8	36,6
9	36,5	36,8	36,8	36,8	36,7	36,7	36,5	36,8	36,6	36,7
10	36,8	36,6	36,8	36,7	36,8	36,7	36,6	36,6	36,7	36,7
11	36,8	36,9	36,8	36,7	36,8	36,8	36,5	36,4	36,7	36,8
12	36,6	36,7	36,9	36,7	36,8	36,7	36,8	36,7	36,6	36,9
13	36,7	36,8	36,8	36,6	36,7	36,5	37,3	36,8	36,5	36,6
14	36,8	36,8	36,6	36,7	36,8	36,9	37,5	36,8	36,6	36,7
15	36,7	36,9	36,7	36,7	36,7	36,6	37,6	37,1	36,6	36,6
16	36,7	37,2	36,7	36,8	36,7	36,8	37,2	37,4	36,4	36,5
17	36,9	37,4	36,5	36,8	36,5	36,9	37,5	37,5	36,7	36,5

Tage	VI	VII	VIII	IX	X
18	36,9	37,3	36,3	36,8	36,7
19	37,1	37,3	36,9	36,9	36,6
20	37,4	37,2	37,2	37,2	36,8
21	37,2	37,3	37,2	36,8	36,9
22	37,3	37,5	36,8	37,2	36,9
23	37,2	37,1	37,3	37,4	36,8
24	37,1	37,2	37,4	37,1	37,1
25	37,4	37,4	37,3	37,5	37,2
26	37,4	37,5	37,2	37,2	37,2
27	37,3	37,3	37,2	37,3	37,1
28	37,4	37,2	37,4	37,1	37,3
29	37,3	37,4	37,1		
30	37,1	37,4			
31					
32					
33					
34					

Tab. XLIII: : Basaltemperaturwerte in °Celsius der Probandinnen VI bis X ohne hormonale Kontrazeption.

Tago	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII
1	36,3	36,3	36,7	36,6	36,6	36,4	36,7	36,6 36,4 36,6 36,9
2	36,6	36,7	36,7	36,5	36,5	36,6	36,7	36,8 36,5 36,6 36,8
3	36,7	36,7	36,6	36,6	36,5	36,5	36,5	36,7 36,6 36,7 36,8
4	36,5	36,3	36,5	36,6	36,5	36,4	36,7	36,6 36,4 36,8 36,9
5	36,8	36,8	36,7	36,7	36,8	36,8	36,8	36,6 36,4 36,6 36,5
6	36,8	36,7	36,6	36,6	37,2	36,7	36,8	36,8 36,5 36,7 36,6
7	36,6	36,6	36,7	36,5	36,9	36,6	36,6	36,7 36,5 36,6 36,7
8	36,7	36,7	36,7	36,9	36,9	36,7	36,7	36,8 36,7 36,9 37,1
9	36,7	36,6	36,8	36,4	36,8	36,8	36,9	36,9 36,8 36,8 36,8
10	36,5	36,6	36,7	36,5	36,6	36,6	36,9	36,8 36,7 36,7 36,7
11	36,6	36,7	36,8	36,6	36,7	36,6	36,8	36,6 36,7 36,8 36,6
12	36,6	36,8	36,7	36,5	36,7	36,7	36,7	36,8 36,6 36,6 36,7
13	36,5	36,7	36,6	36,8	36,7	36,6	36,6	36,8 36,6 36,5 36,6
14	36,8	37,0	36,6	37,3	36,6	36,5	36,8	36,7 37,2 36,5 36,6
15	36,9	37,4	36,5	37,5	36,9	36,6	36,8	36,9 37,1 36,7 36,6
16	37,4	37,5	36,5	37,4	37,4	36,9	36,9	37,0 36,9 36,6 36,8
17	37,5	37,4	36,5	37,1	37,6	37,0	37,2	37,2 36,8 36,8 36,9

Tage	XI	XII	XIII	XIV	XV	XVI	XVII	XVIII
18	37,2	37,3	36,7	37,6	37,8	37,5	37,4	37,3 37,0 36,5 36,7
19	37,7	37,2	36,9	37,5	37,6	37,4	37,3	37,4 37,2 36,9 36,6
20	37,3	37,4	36,9	37,6	37,7	37,3	37,2	37,2 37,4 36,7 36,8
21	37,2	37,7	37,3	37,4	37,1	37,2	37,1	37,2 37,2 36,6 36,7
22	37,4	37,2	37,3	37,2	37,2	37,2	37,5	37,4 37,2 36,6 36,7
23	37,5	37,2	37,2	37,3	37,1	37,3	37,1	37,4 37,1 36,8 36,6
24	37,5	37,3	37,3	37,3	37,0	37,4	37,2	37,3 37,1 36,7 36,6
25	37,4	37,2	37,3	37,2		37,1	37,2	37,2 37,3 36,7 36,7
26		37,3	37,2	37,3		37,1	37,4	37,1 37,4 36,8 36,5
27		37,4	37,2	37,4		37,2	37,3	37,1 37,2 36,6 36,0
28		37,3	37,8			37,2	37,5	37,2 37,3 36,6 36,7
29		37,3				37,3	37,4	36,5 36,6
30		37,3						36,6
31								36,7
32								36,9
33								36,8
34								36,8

Tab. XLIV: Basaltemperaturwerte in °Celsius der Probandinnen XI bis XVIII ohne hormonale Kontrazeption.

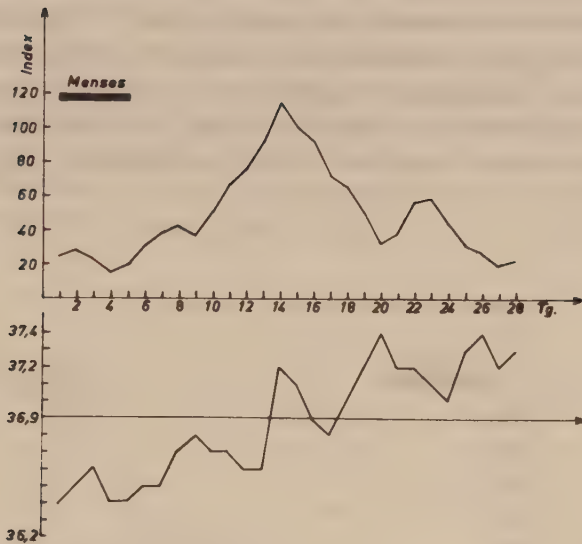


Abb. 34: Aktivitätsverlauf der ALP und Basaltemperaturkurve im zweiten hormonell unbeeinflussten Zyklus der Probandin VII.

Bei den Probandinnen III und X ließ sich in jeweils einem von zwei untersuchten Zyklen nur ein erstes Aktivitätsmaximum in der Zyklusmitte feststellen. Dasselbe war in dem einen untersuchten Zyklus der Probandin XI der Fall. Alle drei Zyklen waren gegenüber dem Durchschnitt verkürzt und dauerten nur 23 bzw. 25 Tage (Tabelle XXXIX, XL und XLI). Die Basaltemperaturkurven der drei Probandinnen verliefen in allen Zyklen biphasisch.

Die zwei untersuchten Zyklen der 15-jährigen Probandin XVIII verliefen nicht zweigipfelig, sondern zeigten einen Aktivitätszuwachs bis zum 24. bzw. 30. Zyklustag. Danach ging die ALP-Aktivität bis zur vier bzw. fünf Tage später einsetzenden Regelblutung wieder auf Normalwerte zurück (Tabelle XLI, Abbildung 35). Die Basaltemperatur verlief in beiden Zyklen monophasisch (Tabelle XLIV).

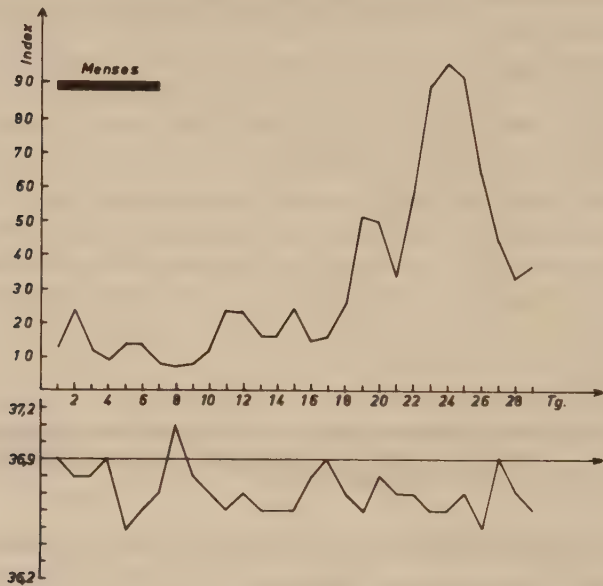


Abb. 35: Aktivitätsverlauf der ALP und Basaltemperaturkurve im hormonell unbeeinflussten Zyklus der Probandin XVIII.

Die Aktivitäts-Indices der zwölf Frauen mit hormonaler Kontrazeption zeigten keinen zweigipfeligen Verlauf. In den Zyklen der Probandinnen I bis XI traten lediglich mehr oder weniger ausgeprägte tägliche Aktivitätsschwankungen auf (Tabelle XLV und XLVI, Abbildung 36 bis 39). Bei der Probandin XII kam es hingegen zu einer Aktivitätszunahme bis zum 23. Zyklustag. Anschließend gingen die ALP-Indices bis zum Einsetzen der Regelblutung wieder zurück (Abbildung 40 und 41).

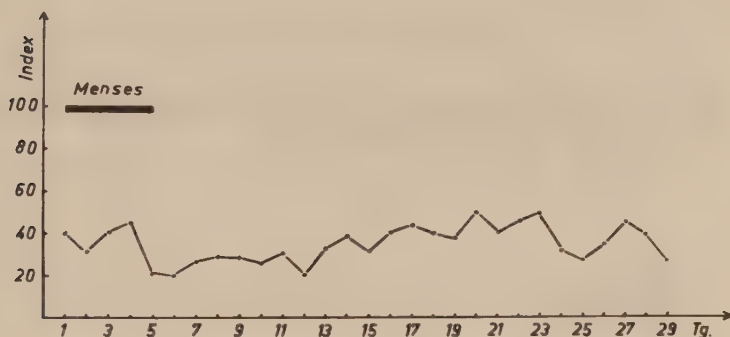


Abb. 36: Aktivitätsverlauf der ALP im hormonell beeinflussten Zyklus der Probandin VII.

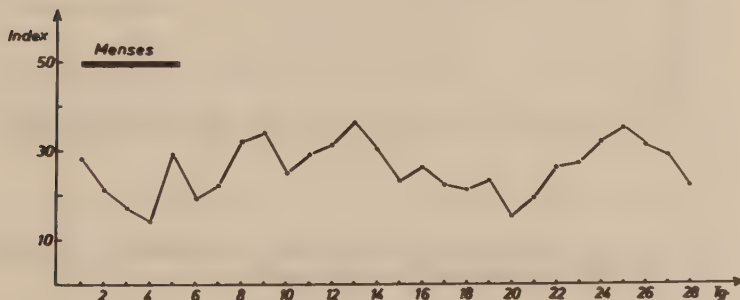


Abb. 37: Aktivitätsverlauf der ALP im hormonell beeinflussten Zyklus der Probandin VI.

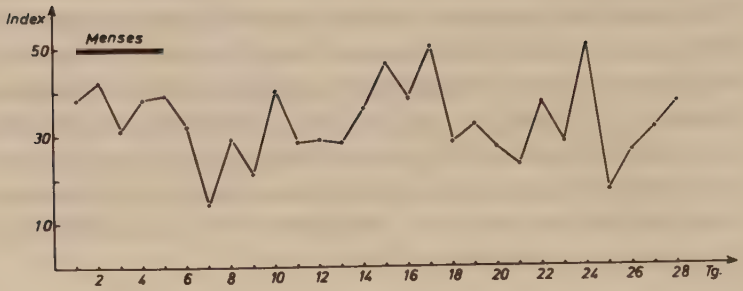


Abb. 38: Aktivitätsverlauf der ALP im hormonell beeinflussten Zyklus der Probandin V.

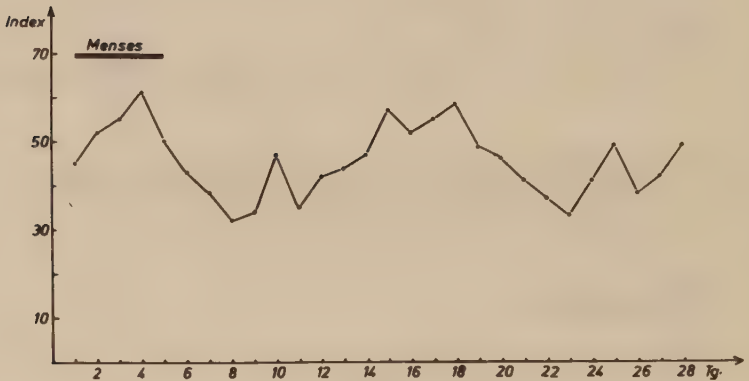


Abb. 39: Aktivitätsverlauf der ALP im hormonell beeinflussten Zyklus der Probandin III.

I n d e x

Tage	I	II	III	IV	V	VI
1	46	42	45 49	23	38	28
2	24	35	52 25	12	42	39
3	34	38	55 25	16	32	31
4	31	37	61 18	21	38	29
5	33	31	50 46	25	39	35
6	23	33	43 31	19	32	27
7	16	28	39 22	21	14	28
8	26	26	32 19	33	29	37
9	41	32	34 14	38	21	36
10	32	37	47 18	51	40	42
11	39	34	35 14	46	28	32
12	37	40	42 31	43	29	35
13	43	41	44 33	42	28	31
14	44	28	47 22	39	36	29
15	36	31	57 50	27	46	38
16	48	36	52 33	37	38	37

I n d e x

Tage	I	II	III	IV	V	VI		
17	28	39	55	31	35	50	46	22
18	46	49	58	39	35	28	36	21
19	55	41	48	48	54	32	29	23
20	47	29	46	57	42	27	31	15
21	50	27	41	54	43	23	39	19
22	47	29	37	50	52	37	36	26
23	29	38	33	47	36	28	33	27
24	34	45	41	46	41	50	44	32
25	30	40	40	33	44	17	30	35
26	33	54	30	29	16	26	32	31
27	20	51	42	43	51	31	24	29
28	13	47	49	38		37	18	22
29								
30								
31								

Tab. XLV:.. ALP-Indices der Probandinnen I bis VI mit hormonaler Kontrazeption.

I n d e x

Tage	VII		VIII		IX	X	XI	XII	
1	35	40	19	34	40	73	19	11	24
2	24	31	30	19	30	79	17	19	18
3	16	41	45	41	32	82	26	16	8
4	29	45	40	27	27	85	22	8	16
5	32	21	28	18	22	76	20	10	30
6	35	20	32	21	16	70	26	17	42
7	13	26	33	54	27	60	18	19	16
8	32	29	45	43	23	61	23	33	30
9	31	28	46	60	30	59	24	36	42
10	40	26	32	51	32	59	35	43	52
11	30	30	24	56	40	62	39	62	80
12	33	20	36	44	34	63	26	50	64
13	23	33	32	61	24	57	36	69	74
14	28	39	36	56	32	64	40	71	68
15	19	32	45	63	33	67	45	74	66
16	30	40	38	53	36	69	48	76	76

I n d e x

Tage	VII		VIII		IX		X	XI	XII	
17	17	44	32	70	20	74	44	63	70	
18	40	40	23	46	44	77	50	62	79	
19	34	38	36	61	29	83	34	76	68	
20	28	50	32	47	14	92	70	55	94	
21	37	42	52	59	21	88	65	36	87	
22	26	46	34	73	25	86	61	92	89	
23	51	52	50	61	29	85	64	105	105	
24	47	32	42	55	38	34	54	93	71	
25	42	28	42	45	34	82	50	32	68	
26	37	35	36	66	24	77	26	74	42	
27	50	46	33	61	32	70	31	57	44	
28		40	29	34	22	68	24	39		
29							28	58		
30								33		
31								35		

Tab. XLVI: ALP-Indices der Probandinnen VII bis XII mit hormonaler Kontrazeption.

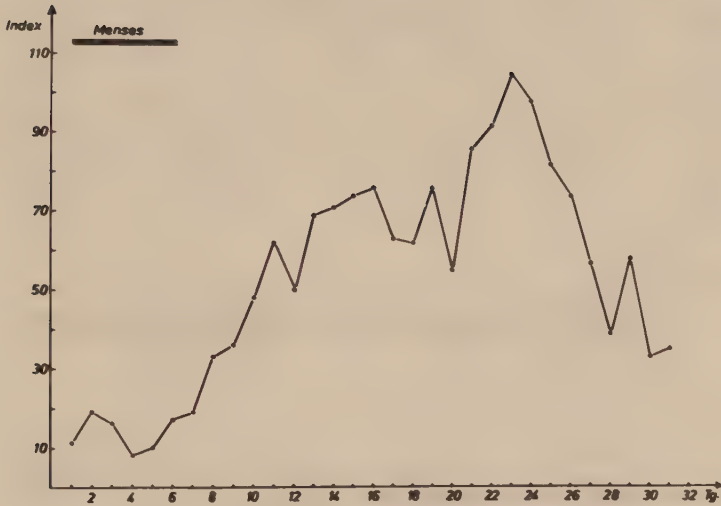


Abb. 40: Aktivitätsverlauf der ALP im ersten hormonell beeinflussten Zyklus der Probandin XII.



Abb. 41: Aktivitätsverlauf der ALP im zweiten hormonell beeinflussten Zyklus der Probandin XII.

Die statistische Berechnung erfolgte nach dem 2-Faktorenplan mit wiederholten Messungen auf einem Faktor (B = Zeitpunkte) nach B. WINER (103):

Faktor A:

p = 2 Stufen: mit/ohne Ovulationshemmer

Faktor B:

q = 6 Stufen: Zeitpunkte

n = 12 Replikationen = 12 Patientinnen pro Gruppe

Vergleich 1 (1. Maximum)

Quelle	SS	df	MS	F-Test	F
A	2513,342	1,000	2513,342	MAQ _A / MAQ _{Vpn}	0,959
Vpn innerhalb A	41919,815	16,000	2619,988		
B	38248,157	5,000	7649,631	MAQ _B / MAQ _{Rest}	40,744 ***
AB	11447,936	5,000	2289,587	MAQ _{AB} / MAQ _{Rest}	12,195 ***
Rest	15019,741	80,000	187,746		

*** = $p < 0,001$

Vergleich 2 (2. Maximum)

Quelle	SS	df	MS	F-Test	F
A	0,009	1,000	0,009		0,000
Vpn innerhalb A	34794,482	16,000	2174,655		
B	14721,935	5,000	2944,387		22,795 ***
AB	6567,936	5,000	1313,587		10,169 ***
Rest	10333,296	80,000	129,166		

*** = $p < 0,001$

Interpretation:

1. Vergleich

- A Die mittlere Höhe der Kurven ist nicht unterschiedlich.
- B Insgesamt ist hochsignifikant gesichert, daß die Meßwerte in charakteristischen Kurven verlaufen.
- AB Die Kurvenverläufe sind hochsignifikant unterschiedlich in den beiden Gruppen (mit gegen ohne Ovulationshemmer).

2. Vergleich

Es findet sich dasselbe Ergebnis.

C. ALP im Kindesalter und in der Pubertät

Die ALP-Aktivitäten der Mädchen im Alter von sieben bis neun Jahren bewegten sich im Durchschnitt zwischen 58 und 67,6 Index-Einheiten. Im zehnten Lebensjahr ging die Aktivität erheblich zurück, der mittlere Index betrug nur noch 16,2. In den folgenden Lebensjahren war ein stetiger Aktivitätsanstieg zu verzeichnen bis zu einem mittleren Index von 58,2 bei den Fünfzehnjährigen.

Die Unterteilung in Altersgruppen zeigte die höchsten mittleren Indices bei den Mädchen von sieben bis neun Jahren mit einem Index-Mittelwert von 58,2. Sodann folgten die bereits menstruierten Mädchen zwischen dem dreizehnten und fünfzehnten Lebensjahr mit einem durchschnittlichen Index von 50,5 und die mittlere Altersgruppe der Zehn- bis Zwölfjährigen mit 25,7 Index-Einheiten als Mittelwert (Tabelle XLVII und XLVIII, Abbildung 42 und 43).

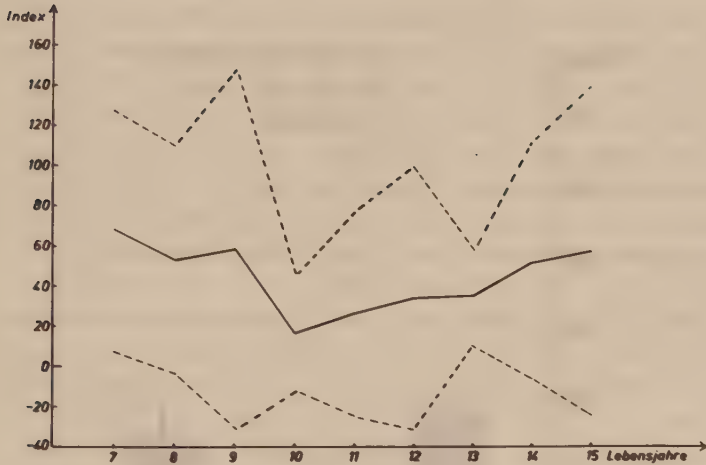


Abb. 42: Index-Mittelwerte der ALP von Mädchen zwischen dem 7. und 15. Lebensjahr. Der 2s-Bereich ist angegeben. Die Mittelwerte wurden aus mindestens zehn Einzelwerten berechnet.

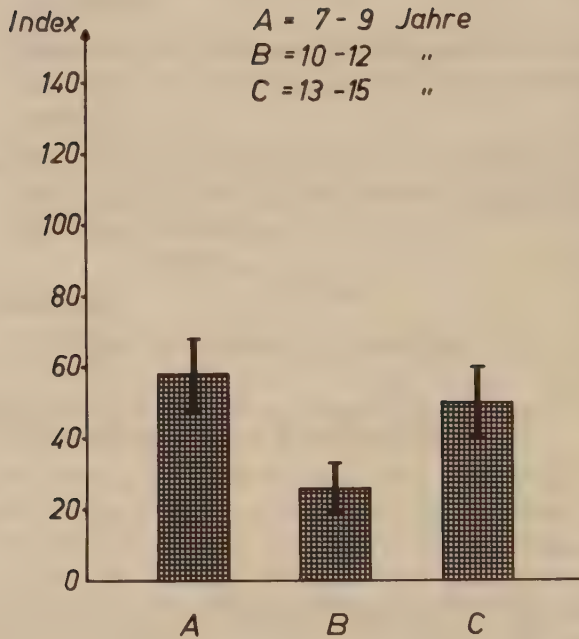


Abb. 43: Index-Mittelwerte der ALP von Mädchen zwischen dem 7. und 15. Lebensjahr in drei Altersgruppen unterteilt. Der $2s \bar{x}$ - Bereich ist angegeben.

L e b e n s j a h r e

Prob.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
1	53	45	27	16	100	4	34	32	40
2	39	96	27	22	26	7	24	14	66
3	97	46	93	20	6	18	32	52	24
4	62	77	88	8	4	26	30	104	12
5	39	25	20	20	43	34	14	38	10
6	26	31	56	13	6	12	32	36	24
7	86	97	26	42	8	4	50	62	80
8	120	63	14	11	18	35	30	40	46
9	86	94	20	2	6	104	46	38	52
10	52	97	118	61	12	8	53	62	18
11	29	16	28	17	4	12		38	50
12		31	146	8	22	5		112	116
13		42	44	14	8	3			44
14		47	134	2	65	28			44

L e b e n s j a h r e

Prob.	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.
15		36	21	4	5	7			84
16		19	66	6	17	53			60
17		31		11	29	104			166
18		20		15	3	72			112
19		73			38	47			
2		79			7	36			
21					18	32			
22					35				
23					49				
24					78				
25					30				

Tab. XLVII: ALP-Indices von Mädchen zwischen dem 7. und 15. Lebensjahr.

Lebensjahre

	7.	8.	9.	10.	11.	12.	13.	14.	15.	7.-9.	10.-12.	13.-17.
$\bar{x}$	67,6	53,2	58	16,2	25,8	33,6	34,5	52,3	58,2	58,2	25,7	50,5
n	11	20	16	18	25	21	10	12	13	47	64	40
s	30,2	20,6	44,4	14,5	25,4	33	12	29,1	40,9	34,8	26,4	33,1
$\bar{x} + 2s$	128,1	110,5	146,8	45,3	76,6	99,6	58,5	110,6	140,1	127,0	78,4	116,8
$\bar{x} - 2s$	7,1	-4	-30,8	-12,9	-25	-32,3	10,5	-5,9	-23,6	-11,4	-27	-15,7

Tab. XLVIII: Mittelwerte der ALP-Indices von Mädchen zwischen dem 7. und 15. Lebensjahr.

4. In - vitro - Untersuchungen

A. Östradiolwirkung auf Heparin-Blut

Die Inkubation von Östradiol mit 5 ml Heparin-Blut von zehn männlichen Versuchspersonen führte zu keiner signifikanten Aktivitätsänderung der ALP. Der mittlere Index-Leerwert vor Inkubationsbeginn betrug 71,6. Dieser Wert wurde nach 1-, 2-, 3-, 4-, 7- und 22-stündiger Inkubation weder von den zur Kontrolle bestimmten Leerwerten noch von den mit 2,5 μg , 10 μg , 25 μg und 50 μg Östradiol inkubierten Blutproben erreicht (Tabelle LIII bis LVI). Die ALP-Aktivitäten der mit Östradiol versetzten Blutproben lagen geringfügig über oder unter den gleichzeitig bestimmten Leerwerten (Tabelle IL bis LII).

B. Östradiolwirkung auf isolierte Leukozyten

Die Inkubation isolierter Leukozyten aus dem Heparin-Blut zehn männlicher Versuchspersonen mit 50 μg Östradiol hatte keine signifikanten Aktivitätsänderungen der ALP zur Folge. Die ALP-Aktivität betrug vor der Inkubation durchschnittlich 33,7 mU/ml und nach fünfstündiger Inkubation 33,1 mU/ml. Der mittlere Index des Leerwertes wurde zur selben Zeit mit 32,3 mU/ml ermittelt (Tabelle LVII und LVIII).

C. Einwirkung von östrogenhaltigem Blutplasma auf isolierte Leukozyten

Die fünfstündige Inkubation von isolierten Leukozyten sieben männlicher Versuchspersonen mit unverändertem und vermehrt östrogenhaltigem Blutplasma kastrierter Patientinnen führte zu keiner signifikanten Änderung der ALP-

Aktivität. Die ALP-Aktivität der isolierten Leukozyten betrug vor der Inkubation im Mittel 38,7 mU/ml, nach Inkubation mit Normalplasma durchschnittlich 37,7 mU/ml und mit Östrogen-Plasma 38 mU/ml (Tabelle LIX und LX).

D. Einwirkung von östrogenhaltigem Blutplasma auf Heparin-Blut

Das mit unverändertem und vermehrt östrogenhaltigem Blutplasma kastrierter Patientinnen versetzte Heparin-Blut acht männlicher Versuchspersonen zeigte nach fünfstündiger Inkubation keine signifikanten Aktivitätsänderungen der ALP. Die Ausgangsaktivität vor der Inkubation betrug im Mittel 31,1 mU/ml. Die durchschnittlichen Aktivitäten nach der Inkubation mit Normal-Plasma bzw. Östrogen-Plasma ergaben mit 30,5 mU/ml bzw. 31,4 mU/ml nur geringfügige Abweichungen (Tabelle LXI und LXII).

I n d i c e s

Prob.	0	1	2	3	4	7	22
I		35	28	29	37	22	33
	(33)	(29)	(36)	(34)	(25)	(18)	(24)
II		136	238	231	206	220	213
	(217)	(202)	(191)	(212)	(214)	(207)	(200)
III		107	121	109	113	116	102
	(122)	(102)	(134)	(106)	(108)	(113)	(121)
IV		36	40	30	46	45	51
	(57)	(39)	(46)	(43)	(52)	(53)	(49)
V		71	65	71	80	82	85
	(83)	(76)	(60)	(73)	(67)	(81)	(70)
VI		42	38	31	29	29	32
	(31)	(37)	(29)	(26)	(39)	(33)	(41)
VII		31	33	26	29	23	25
	(22)	(28)	(26)	(29)	(34)	(32)	(21)
VIII		52	42	40	29	35	42
	(49)	(43)	(52)	(51)	(45)	(52)	(43)
IX		61	64	56	58	56	51
	(58)	(63)	(55)	(62)	(69)	(59)	(54)
X		40	38	45	51	50	43
	(41)	(36)	(29)	(38)	(44)	(37)	(39)

Tab. II: ALP-Indices nach 1 - 22-stündiger Inkubation von 5 ml Heparin-Blut zehn männlicher Versuchspersonen mit 2,5 μ g Östradiol. Die entsprechenden Leerwerte sind in Klammern angegeben.

Indices

Prob.	0	1	2	3	4	7	22
I		39	28	25	30	27	26
	(33)	(29)	(36)	(34)	(25)	(18)	(24)
II		200	217	222	210	197	205
	(217)	(202)	(191)	(212)	(214)	(207)	(200)
III		112	128	112	117	123	131
	(122)	(102)	(134)	(106)	(108)	(113)	(121)
IV		42	49	38	53	51	54
	(57)	(39)	(46)	(43)	(52)	(56)	(42)
V		39	34	73	61	67	72
	(33)	(76)	(62)	(73)	(67)	(31)	(74)
VI		23	25	29	31	30	30
	(34)	(37)	(29)	(26)	(39)	(33)	(41)
VII		19	28	20	32	34	29
	(22)	(23)	(26)	(29)	(34)	(32)	(21)
VIII		30	39	47	42	51	49
	(49)	(43)	(52)	(51)	(45)	(62)	(43)
IX		50	59	55	70	64	56
	(58)	(63)	(55)	(62)	(69)	(59)	(54)
X		39	40	35	37	23	27
	(41)	(36)	(29)	(30)	(44)	(37)	(39)

Tab. L: ALP-Indices nach 1 - 22-stündiger Inkubation: von 5 ml Heparin-Blut zehn männlicher Versuchspersonen mit 10 μ g Östradiol. Die entsprechenden Leerwerte sind in Klammern angegeben.

Indices

Prob.	0	1	2	3	4	7	22
I		25	41	27	20	39	28
	(33)	(29)	(36)	(34)	(25)	(16)	(21)
II		203	218	203	200	186	193
	(217)	(202)	(191)	(212)	(214)	(207)	(200)
III		109	120	119	103	108	110
	(122)	(102)	(134)	(106)	(108)	(113)	(121)
IV		43	52	55	47	43	56
	(57)	(39)	(46)	(43)	(52)	(58)	(41)
V		69	83	67	65	72	84
	(33)	(76)	(62)	(73)	(67)	(81)	(71)
VI		43	36	29	34	39	35
	(34)	(37)	(29)	(26)	(39)	(33)	(41)
VII		19	18	27	23	33	23
	(22)	(28)	(26)	(29)	(34)	(32)	(21)
VIII		38	43	49	37	39	43
	(49)	(43)	(52)	(51)	(45)	(62)	(43)
IX		51	46	53	58	49	41
	(58)	(63)	(55)	(62)	(69)	(59)	(54)
X		42	45	41	29	33	46
	(41)	(36)	(29)	(38)	(44)	(37)	(39)

Tab. LI: ALP-Indices nach 1 - 22-stündiger Inkubation von 5 ml Heparin-Blut zehn männlicher Versuchspersonen mit 25 μ g Östradiol. Die entsprechenden Leerwerte sind in Klammern angegeben.

I n d i c e s

Prob.	0	1	2	3	4	7	22
I		36	45	36	28	22	19
	(33)	(29)	(36)	(34)	(25)	(18)	(24)
II		208	187	201	211	205	219
	(217)	(202)	(191)	(212)	(214)	(207)	(200)
III		101	109	112	104	122	116
	(122)	(102)	(134)	(106)	(108)	(113)	(121)
IV		56	39	42	49	46	40
	(57)	(39)	(46)	(43)	(52)	(58)	(49)
V		82	69	63	74	80	67
	(83)	(76)	(62)	(73)	(67)	(81)	(79)
VI		29	37	28	25	35	42
	(34)	(37)	(29)	(26)	(39)	(33)	(41)
VII		26	34	37	27	25	17
	(22)	(28)	(26)	(29)	(34)	(32)	(21)
VIII		47	56	55	51	48	39
	(49)	(43)	(52)	(51)	(45)	(62)	(43)
IX		49	61	53	60	67	57
	(58)	(63)	(55)	(62)	(69)	(59)	(54)
X		42	35	34	35	31	49
	(40)	(36)	(29)	(38)	(44)	(37)	(39)

Tab. LII: ALP-Indices nach 1 - 22-stündiger Inkubation von 5 ml Heparin-Blut zehn männlicher Versuchspersonen mit 50 μ g Östradiol. Die entsprechenden Leerwerte sind in Klammern angegeben.

Probe

Leerwert

	0	1	2	3	4	7	22	1	2	3	4	7	22
$\bar{x}$	71,6	65,5	66,0	67,4	69,7	70,0	66,2	66,1	70,7	68,4	68,3	65,7	67,7
n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
s	53,7	53,4	54,0	56,3	55,0	55,4	54,9	47,0	64,8	62,2	55,9	61,6	56,5
$\bar{x} \pm 2s$	139,0	172,4	173,9	179,9	181,4	180,9	175,9	161,9	200,2	192,9	180,0	189,9	130,1
$\bar{x} - 2s$	45,8	41,4	41,9	45,1	42,0	40,9	43,5	29,7	50,9	56,1	43,4	56,5	45,3

Tab. LIII: . Index-Mittelwerte der ALP nach 1, 2, 3, 4, 7 und 22-stündiger Inkubation von 5 ml Heparin-Blut männlicher Versuchspersonen mit 2,5 μ g Östradiol.

Leerwert

Probe

	0	1	2	3	4	7	22	1	2	3	4	7	22
$\bar{X}$	71,6	55,5	66,0	67,4	69,7	70,0	66,2	65,6	69,7	65,6	68,3	67,2	57,9
n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
s	53,7	53,4	54,0	56,3	55,9	55,4	54,9	55,1	60,7	61,4	56,4	53,9	57,6
$\bar{X} + 2s$	189,0	172,4	173,9	179,9	181,4	180,9	175,9	175,8	191,1	188,3	181,0	175,0	183,1
$\bar{X} - 2s$	45,8	41,4	41,9	45,1	42,0	40,9	43,5	44,6	51,7	57,1	44,4	40,6	47,3

Tab. LIV: Index-Mittelwerte der ALP nach 1, 2, 3, 4, 7 und 22-stündiger Inkubation von 5 ml Heparin-Blut männlicher Versuchspersonen mit $10 \mu\text{g}$ Östradiol.

Probe

Leerwert

	1	2	3	4	7	22	1	2	3	4	7	22	
$\bar{x}$	71,6	55,5	66	67,4	69,7	70,0	55,2	64,2	70,2	67	51,6	64,3	56,9
n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
s	53,7	53,4	54,0	56,3	55,9	55,5	54,9	54,9	59,2	55,0	54,5	49,0	51,3
$\bar{x} + 2s$	139,0	172,4	173,9	179,9	181,4	180,9	175,9	174,0	188,6	176,9	170,6	162,9	165,5
$\bar{x} - 2s$	45,3	41,4	41,9	45,1	42,0	40,9	45,5	45,5	48,2	42,9	47,4	33,3	35,7

Tab. LV: Index-Mittelwerte der ALP nach 1, 2, 3, 4, 7 und 22-stündiger Inkubation von 5 ml Heparin-Blut männlicher Versuchspersonen mit 25 μ g⁰stradiol.

Leerwert Probe

	1	2	3	4	7	22	1	2	3	4	7	22
$\bar{x}$	71,6	65,5	66,0	67,4	69,7	70,0	66,2	67,6	67,2	66,1	66,4	66,5
n	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10	10
s	58,7	53,4	54	56,3	55,9	55,4	54,9	54,6	47,8	53,1	56,5	60,1
$\bar{x} \pm 2 s$	139,0	172,4	173,9	179,9	181,4	180,9	175,9	176,8	162,9	172,4	179,3	181,9
$\bar{x} - 2 s$	45,6	41,4	41,9	45,1	42,0	40,9	43,5	41,6	28,5	40,2	46,5	54,4

Tab. XVI: Index-Mittelwerte der ALP nach 1, 2, 3, 4, 7 und 22-stündiger Inkubation von 5 ml Heparin-Blut männlicher Versuchspersonen mit 50 μ g Östradfol.

Prob.	Probe		Leerwert	
	vor	nach	vor	nach
I	7	5	7	5
II	90	86	90	94
III	63	58	63	56
IV	38	35	38	37
V	42	42	42	45
VI	13	9	13	10
VII	10	7	10	6
VIII	22	26	22	24
IX	29	26	29	22
X	23	27	23	24

Tab. LVII: ALP (in mU/ml) von Leukozytenaufschwemmungen zehn männlicher Versuchspersonen vor und nach fünfstündiger Inkubation mit Östradiol.

	vorher	nachher (Probe)	nachher (Leerwert)
$\bar{x}$	33,7	33,1	32,3
n	10	10	10
s	26,02	26,43	27,36
$\bar{x} + 2s$	85,73	85,97	86,99
$\bar{x} - 2s$	18,33	19,77	22,39

Tab. LVIII: ALP-Mittelwerte (in mU/ml) der Probanden aus Tabelle LVII.

Prob.	Leukozytenkonzentrate in Normal-Plasma		Leukozytenkonzentrate in Östrogen-Plasma	
	vor	nach	vor	nach
I	36	34	36	33
II	23	26	23	22
III	54	49	54	55
IV	18	18	18	15
V	12	14	12	13
VI	46	48	46	49
VII	82	75	82	79

Tab. LIX: ALP (in mU/ml) von Leukozytenkonzentraten sieben männlicher Versuchspersonen vor und nach fünfstündiger Inkubation mit Normal-Plasma bzw. vermehrt östrogenhaltigem Plasma weiblicher Versuchspersonen.

	vorher	nachher (Normal-Plasma)	nachher (Östrogen-Plasma)
$\bar{x}$	38,7	37,7	38
n	7	7	7
s	24,35	21,31	24,24
$\bar{x} + 2s$	87,41	80,34	86,48
$\bar{x} - 2s$	9,98	4,91	10,48

Tab. LX: ALP-Mittelwerte der Probanden aus Tabelle LIX.

Prob.	Heparinblut mit Normal-Plasma		Heparinblut mit Östrogen-Plasma	
	vor	nach	vor	nach
I	35	38	35	36
II	50	46	50	52
III	21	23	21	19
IV	17	18	17	17
V	37	32	37	34
VI	42	44	42	45
VII	13	15	18	16
VIII	29	28	29	32

Tab. LXI: ALP (in mU/ml) von Heparinblut acht männlicher Versuchspersonen vor und nach fünf-stündiger Inkubation mit Normal-Plasma bzw. vermehrt östrogenhaltigem Plasma weiblicher Versuchspersonen.

	vorher	nachher (Normal-Plasma)	nachher (Östrogen-Plasma)
$\bar{x}$	31,1	30,5	31,4
n	8	8	8
s	11,97	11,59	13,29
$\bar{x} + 2s$	55,06	53,68	57,95
$\bar{x} - 2s$	7,19	7,32	4,80

Tab. LXII: ALP-Mittelwerte der Probanden aus Tabelle LXI.

VI. Diskussion

Die vorliegenden Untersuchungen zeigen, daß die Applikation östrogenen Substanzen bei Mensch, Ratte und Kaninchen eine vermehrte Aktivität der ALP zur Folge hat. Da in dieser Arbeit die Beeinflussung der ALP durch Östrogene in erster Linie qualitativ nachgewiesen werden sollte, wurde die dazu erforderliche Mindestdosis nicht ermittelt. Aus den Versuchen am Kaninchen ließ sich jedoch erkennen, daß die zweieinhalbfach verstärkte Östrogen-Dosis keine vermehrte Enzymaktivität auszulösen vermochte. Die ALP scheint demnach bei den in den Versuchen gewählten Größenordnungen dosisunabhängig zu reagieren.

Die graphische Darstellung der ALP-Aktivitäten in Zyklen hormonell unbeeinflusster Frauen ergab einen charakteristischen zweigipfeligen Kurvenverlauf. Dies spricht ebenfalls für ein östrogenabhängiges Verhalten der ALP, wenn man Östrogenausscheidungskurven von BROWN und Mitarb. (19) zum Vergleich heranzieht (Abbildung 44). Die Autoren fanden in der Zyklusmitte und in der zweiten Zyklushälfte erhöhte Östrogenausscheidungen, wobei sowohl die von ihnen ermittelten Ovulations- als auch Lutealmaxima zeitlich gut mit den höchsten Aktivitätsanstiegen der ALP übereinstimmen. Dabei gilt für die Östrogenausscheidung ebenso wie für die Aktivitätsveränderung der ALP, daß beide in ihrem Gesamtverlauf individuell relativ konstant sind, aber bei verschiedenen Personen beträchtliche Unterschiede aufweisen können.

Das Ovulationsmaximum der ALP trat im Mittel nach 15,6 Zyklostagen ein, d. h. 1,5 Tage nach dem Basaltemperaturtief. Die Beziehung zwischen Aktivitätsmaximum und Ovula-

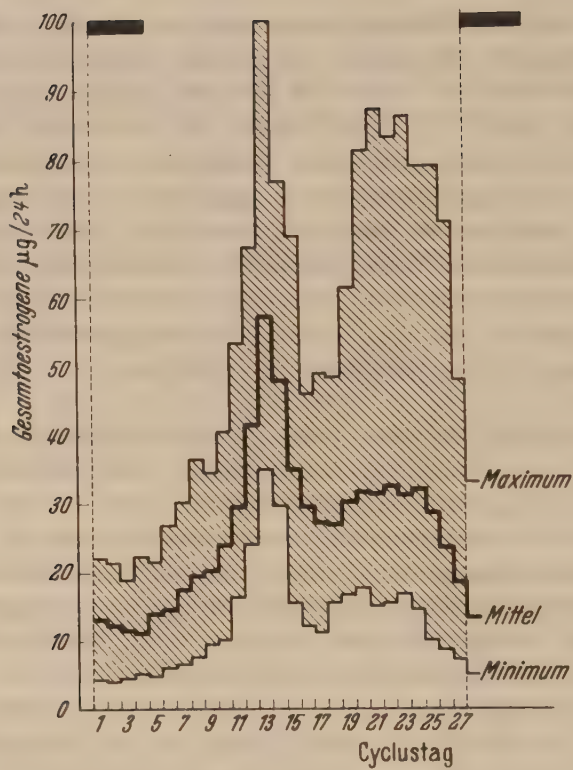


Abb. 44: Gesamtöstrogenausscheidung im Zyklus von 16 normal menstruierten Frauen (nach Brown u. Mitarb. (19)).

tion ist eindeutig, schwierig hingegen die Beantwortung der Frage nach dem zeitlichen Abstand dieser zwei Vorgänge. BROWN u. Mitarb. (19) fanden maximale Östrogenwerte um den 13. Zyklustag und sahen darin einen relativ sicheren Hinweis für die stattgehabte Ovulation. Die höchsten Östrogenwerte würden demnach kurz vor dem in vorliegenden Untersuchungen festgestellten Basaltemperaturtief auftreten. Das würde bedeuten, daß die Aktivitätszunahme der ALP im Zyklus wie auch in den oben angeführten Versuchen an Mensch und Tier ungefähr ein bis zwei Tage der endogenen oder exogenen Östrogenvermehrung im Blut nachhinkt. Ob diese Zeitspanne auch der zwischen Ovulation und ALP-Maximum entspricht, ist nicht mit Sicherheit festzustellen, da es bis heute keine Methode gibt, mit deren Hilfe der Zeitpunkt des Follikelsprungs genau ermittelt werden kann. Die ALP zeigt aufgrund ihres Aktivitätsverlaufes eine stattgefundene Ovulation an, ohne jedoch eine absolute Aussage über deren genauen Zeitpunkt zu ermöglichen.

In dieses Vorstellungsmodell fügt sich durchaus auch die Beobachtung, daß bei der Probandin XVIII (Tabelle XLI), deren Zyklen anovulatorisch verliefen, kein Aktivitätsanstieg der ALP in der Zyklusmitte stattfand. Die in beiden untersuchten Zyklen dieses 15-jährigen Mädchens auftretenden prämenstruellen Aktivitätssteigerungen könnten auf dem bereits von SIEBKE (78) bei juvenilen Blutungen beschriebenen vermehrten biologischen Östrogen-Gehalt im Blut beruhen.

Abweichungen vom charakteristischen zweigipfeligen Kurvenverlauf wiesen jeweils einer von zwei untersuchten Zyklen der Probandinnen III und X sowie der Zyklus der Probandin XI auf. In allen drei Verläufen zeigte sich das Ovulationsmaximum, hingegen fehlte die Aktivitätser-

höhung in der Lutealphase. Offenbar war die Zyklusdauer von 23 bzw. 25 Tagen für die Ausbildung des zweiten Aktivitätsgipfels zu kurz. Die anderen, längeren Zyklen der Probandinnen III und X wiesen wieder die typischen Aktivitätsverläufe auf.

Die Probandinnen, welche hormonale Kontrazeption vornahmen, zeigten folgerichtig keine über die bekannten täglichen Aktivitätsschwankungen hinausgehenden Aktivitätsveränderungen auf. Da die täglich erfolgende exogene Östrogenzufuhr konstant gehalten und die körpereigene Östrogenproduktion unterdrückt wurde, durfte bei östrogenabhängigem Verhalten der ALP weder ein Ovulationsmaximum noch ein Lutealmaximum auftreten.

Einen uncharakteristischen Index-Verlauf zeigten lediglich zwei Zyklen der Probandin XII. Während beider Zyklen nahm die ALP-Aktivität ständig zu, um dann prämenstruell vom rund vier- bis fünffachen Ausgangswert wieder abzufallen. Die Kurvenverläufe hatten in gewissem Maße Ähnlichkeit mit denen der Probandin XVIII aus der Gruppe der hormonell unbeeinflussten Frauen, wobei sich bislang keine Erklärung für dieses atypische Verhalten fand. Vielleicht ist bei der Probandin jener seltene Fall eingetreten, daß, trotz hormonaler Kontrazeption, ein sehr später Follikelsprung stattgefunden hat.

Die Verlaufskontrollen der ALP bei Mädchen zwischen dem siebten und fünfzehnten Lebensjahr zeigten vom zehnten Lebensjahr an Aktivitäten, die östrogenabhängig sein könnten. NATHANSON u. Mitarb. (56) fanden bei Mädchen bis zum siebten Lebensjahr nur eine geringe, konstant bleibende Östrogenausscheidung, danach jedoch eine stetig erfolgende Zunahme des Hormons bis zu Erwachsenenwerten bei einsetzendem Zyklus. Die Enzymaktivitäten der

untersuchten Mädchen wiesen gleichermaßen eine stetig erfolgende Zunahme zwischen dem zehnten und fünfzehnten Lebensjahr auf (Abbildung 42). Vergleicht man die ALP-Mittelwerte der Zehn- bis Zwölfjährigen mit denen der Dreizehn- bis Fünfzehnjährigen, so fallen die signifikant höheren Werte der letzteren auf (Abbildung 43). Es darf vorausgesetzt werden, daß diese Mädchen auch mehr Östrogen produzierten, da sie alle menstruiert waren, was bei keinem der jüngeren Mädchen der Fall war. Folgerichtig wäre zu erwarten gewesen, daß die sieben- bis neun-jährigen Mädchen noch geringere Enzymaktivitäten als die mittlere Altersgruppe aufweisen würden. Daß dies nicht der Fall war, mag dadurch begründet sein, daß der für die in der Kindheit generell erhöhten ALP-Werte (50,62) verantwortliche, unbekannte Mechanismus noch überwiegt und erst im zehnten Lebensjahr durch den zunehmenden Einfluß der Östrogene abgelöst wird. Die endgültige Beantwortung dieser Frage wird weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Wenn gleich die vorliegenden Ergebnisse zeigten, daß die ALP östrogenabhängig zu reagieren vermag, so ist doch damit über den Reaktionsmechanismus noch nichts ausgesagt. Denkbar wäre es, daß die ALP durch Veränderungen der alkalischen Serumphosphatase beeinflusst wird. Diesbezügliche Untersuchungen bei 15 Frauen konnten diese Annahme nicht bestätigen. Während die Applikation von Östradiolbenzoat einen starken Aktivitätsanstieg der ALP zur Folge hatte, zeigte die alkalische Serumphosphatase keine signifikanten Veränderungen.

Von Interesse ist der Zusammenhang zwischen Leukozytose und ALP, da ein Anstieg der ALP-Aktivität theoretisch durch eine Vermehrung der Leukozyten bedingt sein könnte.

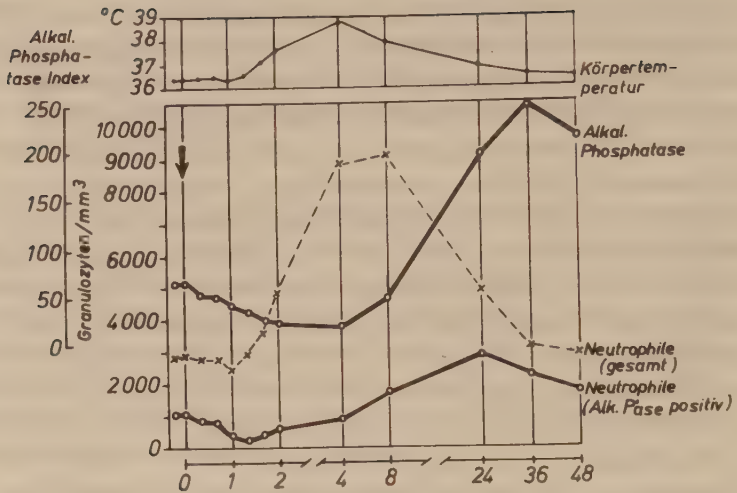


Abb. 45: Der Aktivitätswechsel der ALP im zeitlichen Vergleich zu Neutrophilenregulation und Körpertemperatur nach Pyrexalreiz (nach Merker (50)).

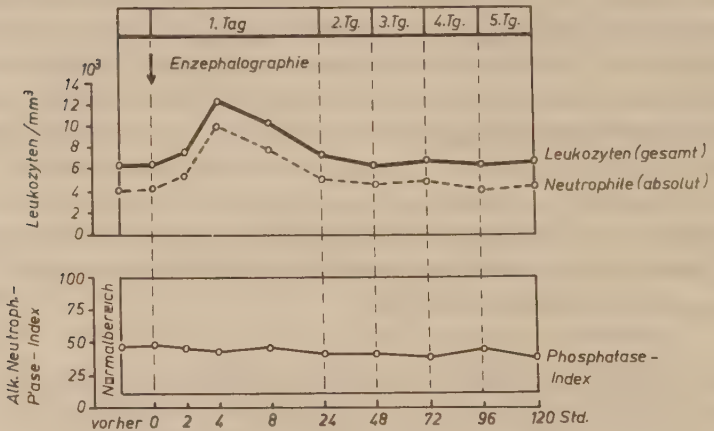


Abb. 46: Index der ALP und Leukozytenregulation nach Helium-Enzephalographie (nach Merker (50)).

Besonders BLUM (13) und WENDT u. BUDDE (98) haben diese Annahme bejaht. MERKER (50) konnte nach Pyrexalreiz eine Beziehung zwischen Aktivitätsverlauf der ALP und Blutbildreaktion mit zeitlicher Verschiebung feststellen (Abbildung 45). Andererseits fand derselbe Autor nach experimentell ausgelöster Adrenalinleukozytose keine Vermehrung der Enzymaktivität (50). Durch Gasenzephalographie provozierte Granulozytosen hatten ebenfalls keinen Einfluß auf die ALP-Aktivität (106, Abbildung 46). Die vorliegenden Untersuchungen am Kaninchen bestätigten diese Ergebnisse: Nach Applikation von Östradiolbenzoat stieg die ALP-Aktivität stark an, die Leukozytenzahl pro mm^3 änderte sich jedoch nicht wesentlich (Abbildung 21 und 22, Tabelle XXII bis XXV). Damit scheint zumindest für die durch Östrogene induzierte ALP-Vermehrung die Annahme zu gelten, daß zwischen Veränderungen von Leukozytenzahl und ALP-Aktivität kein direkter Zusammenhang besteht.

Die vorliegenden In - vitro - Versuche wie auch die Untersuchungen am Kaninchen legen den Schluß nahe, daß die verstärkte Einlagerung der ALP in die neutrophilen Granulozyten nicht erst im peripheren Blut sondern bereits im Knochenmark erfolgt. Die Verabfolgung von Östradiolbenzoat führte bei den Kaninchen zu einem signifikanten Anstieg der ALP. Diese vermehrte Enzymaktivität konnte durch radiologische Schädigung des Knochenmarks, erkenntlich an einer starken Leukozytendepression, völlig unterbunden werden. Das heißt: Bei ausbleibendem Nachschub junger, reifer neutrophiler Leukozyten konnte auch keine Aktivitätsveränderung der ALP mehr erzielt werden, oder aber die im peripheren Blut kreisenden Leukozyten waren durch die Bestrahlung erheblich geschädigt worden und deshalb zu einer Aktivitätszunahme der ALP nicht mehr imstande. Gegen die letztere Möglichkeit sprechen die In - vitro - Untersuchungen. Weder an isolierten Leukozyten noch an

Leukozyten im Vollblut konnte durch Östrogene oder vermehrt östrogenhaltiges Blutplasma eine Aktivitätszunahme der ALP erzielt werden. Demnach scheinen reife, neutrophile Leukozyten zu keiner östrogenbedingten Veränderung ihrer Enzymausstattung fähig zu sein. Diese Befunde stehen in gewissem Widerspruch zu Untersuchungen von WEISSEL u. LOHMANN (97), welche In-vitro-Aktivitätszunahmen der ALP nach Inkubation mit Plasma von Tuberkulose-, Pneumonie- und bestimmten Hämatoblastosekranken feststellten.

Aufgrund vorliegender Untersuchungen kann angenommen werden, daß eine Beeinflussung der ALP durch Östrogene stattfindet. Ob die Einwirkung über die Enzymausstattung der Leukozyten im Knochenmark erfolgt, wie die Ergebnisse vermuten lassen, muß durch weitere Untersuchungen geklärt werden.

Die Verabfolgung von Progesteron hatte weder bei männlichen und weiblichen Ratten noch bei kastrierten Frauen eine Aktivitätsveränderung der ALP zur Folge. Die eingangs angeführten Ergebnisse von EBADI u. MCCOY (25) konnten diesbezüglich nicht bestätigt werden. Das Verhalten der ALP im Zyklus der Frau spricht ebenfalls gegen eine Einwirkung des Progesteron, da, wie oben erwähnt, zwischen Östrogengesamtausscheidung und Aktivitätsverlauf eine eindeutige Beziehung besteht. Bemerkenswert ist, daß die gleichzeitig vorgenommene Applikation von Östradiolbenzoat und Progesteron bei männlichen und weiblichen Ratten keinen Aktivitätsanstieg der ALP hervorrief. Offenbar wirkte Progesteron in der gewählten Dosierung als Anti-Östrogen (27) und verhinderte dadurch die aktivitätsstimulierende Wirkung des Östradiolbenzoat. Eine andere Erklärung ist nur schwer denkbar, da die Dosierung des Östradiolbenzoat genau derjenigen entsprach, die bei den Ratten der Kollektive I und IV deutliche Aktivitätssteigerungen hervorrief.

Die gonadotropinaktiven Präparate PMS und HCG zeigen ein unterschiedliches Verhalten. HCG besitzt ausschließlich eine LH-Aktivität, während PMS daneben auch eine FSH-Aktivität aufweist. Übereinstimmend mit den oben beschriebenen Ergebnissen führte demnach die Applikation von PMS bei Ratten zu einem signifikanten Anstieg der ALP-Aktivität, die Verabfolgung von HCG dagegen nicht. Dabei handelte es sich nicht um eine direkte Beeinflussung der ALP durch PMS oder HCG, sondern um eine Auswirkung des follikelstimulierenden bzw. luteinisierenden Effektes dieser Präparate. Andernfalls wäre auch bei den ovariectomierten Ratten ein ALP-Anstieg zu erwarten gewesen, der jedoch wegen der fehlenden Östrogenproduktion ausblieb. Die gleichzeitige Applikation von PMS und HCG hatte bei den nichtoperierten Ratten ebenfalls einen signifikanten Aktivitätsanstieg zur Folge. Aufgrund der Ergebnisse nach gleichzeitig vorgenommener Verabfolgung von Östradiolbenzoat und Progesteron wäre bei diesen Tieren keine Aktivitätszunahme zu erwarten gewesen. Offenbar war die durch HCG provozierte Progesteronbildung dosisbedingt derart bemessen, daß ein Anti-Östrogeneffekt nicht zustande kam und die durch PMS bewirkte Östrogenbildung überwog.

Die eingangs gestellte Frage nach der Beeinflussung der ALP durch Östrogene, Progesteron und Gonadotropine läßt sich demnach wie folgt beantworten:

1. Östradiolbenzoat führt bei der Frau, beim Kaninchen und bei der Ratte zu einer signifikanten Aktivitätssteigerung der ALP. Darüberhinaus zeigt die ALP auch ein vom endogen erzeugten Östrogenspiegel abhängiges Verhalten, indem sie im mensuellen Zyklus der Frau in ihrem Aktivitätsverlauf mit der Östrogengesamtausscheidung weitgehend übereinstimmt. Die Enzymaktivität ist vom Verhalten der alkalischen Serumphosphatase und der Leukozytenzahl mm^3 unabhängig.

2. Durch Progesteron kann weder bei der Frau noch bei der Ratte eine Aktivitätsänderung der ALP ausgelöst werden. Bei geeigneter Dosierung ist Progesteron in der Lage, einen Anti-Östrogeneffekt auszuüben und eine östrogenbedingte Aktivitätszunahme der ALP zu verhindern.

3. PMS regt die Ovarien zu vermehrter Östrogenbildung an und beeinflusst somit indirekt die ALP. Eine unmittelbare Einwirkung auf das Ferment ließ sich nicht nachweisen. HCG stimuliert die Progesteronproduktion und hat keinen Einfluß auf das Verhalten der ALP.

Die Verabfolgung von jeweils 10 IE thyreotropen Hormons an drei aufeinanderfolgenden Tagen hatte bei Frauen ohne Ovarialfunktion keine Änderung der ALP-Aktivität zur Folge. Hingegen trat bei Ratten nach Applikation von jeweils 2 IE bzw. 0,2 IE thyreotropen Hormons an fünf aufeinanderfolgenden Tagen ein signifikanter Aktivitätsanstieg ein, wobei die größere Dosis auch einen stärkeren Anstieg bewirkte. Ein Unterschied zwischen ovariektomierten und hysterektomierten, nur ovariektomierten und nicht operierten Tieren ließ sich nicht feststellen. Die fehlende Beeinflussung der ALP durch thyreotropes Hormon bei der Frau scheint auf einer zu geringen Dosierung zu beruhen, weshalb es fraglich erscheint, ob mit physiologischen Dosen überhaupt ein Aktivitätsanstieg ausgelöst werden kann.

Zusammen mit Östradiolbenzoat verabfolgt führte thyreotropes Hormon bei Ratten zu einer wesentlich stärkeren Aktivitätszunahme. Thyreotropes Hormon besitzt demnach keine Anti-Östrogenwirkung. Eine Abhängigkeit seiner Wirkung vom Ovar-Endocrinium bezüglich der ALP ist nach den Versuchsergebnissen bei den hysterektomierten und/oder ovariektomierten Ratten zu verneinen. Weitere Untersu-

chungen werden die Frage klären müssen, ob thyreotropes Hormon direkt oder über die Schilddrüse auf die ALP einwirkt, und ob durch andere Dosierung auch beim Menschen eine Beeinflussung der ALP zu erzielen ist.

VII. Zusammenfassung

Die bislang in geringer Anzahl vorliegenden Untersuchungen über Veränderungen der alkalischen Leukozytenphosphatase (ALP) bei physiologischen Vorgängen und Erkrankungen im Bereich der GEBURTSHILFE und FRAUENHEILKUNDE legen die Vermutung nahe, daß die weiblichen Geschlechtshormone einen Einfluß auf die ALP auszuüben imstande sind. Bekanntlich führt die Applikation von ACTH und Cortisonderivaten zu einer Aktivitätserhöhung der ALP. Da für das Gonadal-, Interrenal- und Thyreoidal-Endocrinium das Prinzip der Regulation innerhalb eines Funktionskreises gilt war von Interesse zu prüfen, ob die weiblichen Geschlechtshormone und das thyreotrope Hormon die ALP zu beeinflussen vermögen.

Die Untersuchungen wurden am Menschen, an der Ratte, am Kaninchen und in vitro vorgenommen. Der Nachweis der ALP erfolgte zytochemisch mit dem Azo-Kupplungsverfahren nach MERKER u. HEILMEYER (49) in leicht modifizierter Form nach BAUER-SIC (7) bzw. biochemisch mit einem auf BESSEY u. Mitarb. (12) zurückgehendes Verfahren.

Die Applikation von Östradiolbenzoat hatte bei Mensch, Ratte und Kaninchen eine Aktivitätssteigerung der ALP zur Folge. Dagegen konnte durch Verabfolgung von Progesteron bei Mensch und Ratte keine Aktivitätsänderung erzielt werden. Zusammen mit Progesteron injiziertes Östradiolbenzoat bewirkte bei der Ratte nur einen sehr geringen Aktivitätsanstieg, da Progesteron bezüglich der ALP offenbar einen Anti-Östrogeneffekt ausübt.

Die Applikation von PMS (Pregnant Mare Serum Gonadotrophin) führte aufgrund einer gewissen FSH-Aktivität die-

ses Hormons zu einer gesteigerten ALP-Aktivität. Ebenfalls Ratten verabreichtes HCG (Human Chorion Gonadotrophin) konnte hingegen wegen seiner ausschließlich bestehenden LH-Aktivität keine Aktivitätsveränderung hervorrufen. Ovariectomierte und hysterectomierte Tiere reagierten weder auf HCG noch auf PMS. Somit ist anzunehmen, daß die Beeinflussung der ALP durch PMS nicht direkt, sondern über eine vermehrte Östrogenbildung erfolgt.

Die ALP wird nicht nur durch exogen zugeführtes Östradiolbenzoat in ihrer Aktivität gesteigert, sie reagiert auch auf physiologische Schwankungen des Östrogenspiegels. Im mensuellen Zyklus der Frau wiesen die ALP-Indices Ovulations- und Lutealmaxima auf, die mit solchen von Östrogengesamtausscheidungskurven nach BROWN u. Mitarb. (19) zeitlich gut übereinstimmten. Gleichzeitig geführte Basaltemperaturkurven zeigten durchschnittlich 1,5 Tage vor dem ersten Index-Maximum der ALP ein Temperaturtief. Damit ist eine direkte Beziehung zwischen Follikelsprung und Aktivitätsmaximum der ALP in der Zyklusmitte anzunehmen. Frauen, welche hormonale Kontrazeption vornahmen, wiesen hingegen einen gleichförmigen Verlauf der ALP im Zyklus auf entsprechend ihrem durch die hormonalen Kontrazeptiva weitgehend konstant gehaltenen Östrogenspiegel.

Untersuchungen an Mädchen zwischen dem zehnten und fünfzehnten Lebensjahr erbrachten ständig zunehmende ALP-Aktivitäten, was dem Verhalten der Östrogenausscheidung in diesem Lebensalter entspricht. Jüngere Mädchen im Alter von sieben bis neun Jahren wiesen erhöhte ALP-Indices auf, wie sie aus der Literatur für diese Altersgruppe bekannt sind. Der in der Kindheit für die relativ hohen ALP-Indices verantwortliche unbekannte Mechanismus wird

offenbar mit Einsetzen größerer ovarieller Hormonbildung von den Östrogenen abgelöst.

Ein Zusammenhang zwischen alkalischer Serumphosphatase und ALP konnte ausgeschlossen werden. Während die ALP bei Frauen nach Applikation von Östradiolbenzoat signifikant anstieg, zeigte die alkalische Serumphosphatase keine Reaktion. Ebenso konnte nachgewiesen werden, daß zwischen Leukozytenzahl pro mm³ und ALP-Aktivität keine Beziehungen bestehen. Bestrahlte Kaninchen reagierten mit einer erheblichen Leukozytendepression, die ALP-Aktivität dieser Tiere veränderte sich hingegen kaum.

Durch In-vitro-Untersuchungen sollte die direkte Beeinflussung der ALP durch Östrogene nachgewiesen werden. Dazu wurde Östradiol in verschiedenen Konzentrationen mit Vollblut oder mit isolierten Leukozyten über verschieden lange Zeiten inkubiert. Weder die Leukozyten im Vollblut noch die isolierten Leukozyten zeigten eine Änderung der ALP. Wurde vermehrt östrogenhaltiges Blutplasma an Stelle von Östradiol in der gleichen Versuchsanordnung benutzt, so ließ sich ebenfalls keine ALP-Änderung feststellen. Diese Ergebnisse deuten darauf hin, daß die Aktivitätsänderungen der ALP wahrscheinlich nicht im peripheren Blut erfolgen.

Untersuchungen an bestrahlten Kaninchen machten deutlich, daß die Enzymausstattung der Leukozyten möglicherweise bereits im Knochenmark stattfindet. Während bei unbestrahlten Tieren die ALP auf die Verabfolgung von Östradiolbenzoat mit einem signifikanten Aktivitätsanstieg reagierte, zeigte das Enzym nach einmaliger Bestrahlung mit 800 R OD Co⁶⁰-Strahlung, die zu einer erheblichen Knochenmarkschädigung führte, keine Reaktion auf die Östrogenzufuhr.

Thyreotropes Hormon konnte bei dreimaliger Verabfolgung von jeweils 10 IE bei der Frau keinen Aktivitätsanstieg der ALP provozieren. Bei der Ratte führten hingegen fünf aufeinanderfolgende Injektionen von 2 IE bzw. 0,2 IE zu einem signifikanten Aktivitätsanstieg. Ein wesentlicher Unterschied zwischen ovariektomierten und hysterektomierten, nur ovariektomierten und nicht operierten Tieren konnte nicht festgestellt werden. Die gleichzeitig vorgenommene Applikation von thyreotropem Hormon und Östradiolbenzoat bewirkte eine verstärkte Aktivitätszunahme. Thyreotropes Hormon ruft demnach im Gegensatz zu Progesteron, keinen Anti-Östrogeneffekt hervor. Die unterschiedliche Reaktionsweise der ALP beim Menschen und bei der Ratte wird als Dosisproblem gedeutet. Ob das thyreotrope Hormon direkt oder über die Schilddrüse auf die ALP einwirkt, konnte in der vorliegenden Arbeit nicht geklärt werden und muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

VIII. Literaturverzeichnis

1. ALTER, A. A., S. L. LEE, M. POURFAR, G. DOBKIN:
Studies of Leukocyte Alkaline Phosphatase in Mongolism: A Possible Chromosome Marker.
Blood, Vol. 22, 2 (1963), 165
2. BAILER, P., M. AMTMANN: Die alkalische Leukozytenphosphatase im menstruellen Zyklus der Frau mit und ohne hormonale Kontrazeption.
Schweiz. Z. Gynäk. Geburtsh.
(1970), im Druck
3. BAILER, P., J. FEHRING: Hormonelle Beeinflussung der alkalischen Leukozytenphosphatase bei der Ratte.
Blut (1970), im Druck
4. BAILER, P., H. RÖHR: Das Verhalten der alkalischen Leukozytenphosphatase bei der Ratte nach Applikation von thyreotropem Hormon und weiblichen Geschlechtshormonen.
Blut (1970), im Druck
5. BAILER, P., P. ROTHE: Aktivitätsschwankungen der alkalischen Leukozytenphosphatase nach Applikation von thyreotropem Hormon und Östradiolbenzoat.
Z. Geburtsh. Gynäk. 173 (1970), 148
6. BARNETT, R. J., A. M. SELIGMAN: Histochemical demonstration of esterase by production of indigo.
Science 114 (1951), 579

7. BAUER-SIC, P.: Signifikante Veränderung des Alkalischen Leukozytenphosphatase-Index während des menstruellen Zyklus.
Acta endocr. 52 (1966), 130
8. BAXTER, M. F.: Leukocyte Alkaline Phosphatase.
Hartford Hosp. Bull. Vol. 23,1 (1968), 19
9. BEAL, R. W., M. F. READ, P. A. TURVEY: Neutrophil alkaline phosphatase in pregnancy.
J. clin. Path. Vol. 20 (1967), 749
10. BENNETT, J. M., L. NATHANSON, A. M. RUTENBURG: Significance of Leukocyte Alkaline Phosphatase in Hodgkin's Disease.
Arch. intern. Med. Vol. 121 (1968), 338
11. BERRETTE, L. R.: Sul valore semeiologico della fosfatasi alcalina leucocitaria nella diagnosi di gravidanza ectopica.
Minerva ginec. (Torino) 14 (1962), 1138
12. BESSEY, O. A., O. H. LOWRY, M. J. BROCK: A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum.
J. biol. Chem. 164 (1946), 321
13. BLUM, K.-U.: Enzympathologie der Blutzellen.
Blut 8 (1962), 239

14. BOREL, C., J. FREI, A. VANNOTTI: Leucocyte metabolism in pregnancy.
Acta endocr. 35 (1960), 575
15. BORGLIN, N. E., L. BJERSING: The pituitary and adrenal responses to administration of oestriol in gonadectomized rats.
Acta endocr. (Kbh) 38 (1961), 50
16. BRAUNSTEINER, H., F. PAKESCH, H. VETTER:
Isolierung und Anreicherung funktions-
tüchtiger Leukocyten und Thrombocyten
mittels Polyvinyl-Pyrrolidin.
Acta haemat. 8 (1952), 304
17. BRESSEL, D., S. WITTE, N. HENNING: Die Bedeutung der al-
kalischen Leukozytenphosphatase bei
retikulären und lymphatischen System-
krankheiten und bei der Lymphogranu-
lomatose.
Blut, Bd. VII (1961), 14
18. BRODELL, H., S. N. SMISHER: Studies of leukocyte alkaline
phosphatase determined by clinically
applicable histochemical method.
Clin. Res. Proc. 2 (1954), 58
19. BROWN, J. B., R. KELLAR, G. D. MATTHEW: Preliminary
observations on urinary oestrogen
excretion in certain gynaecological
disorders.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Emp. 2 (1959),
177

20. CHANG, C. Y., E. WITSCHI: Cortisone effect on ovulation
in the frog.
Endocrinology 61 (1957), 514
21. CHANG, I. W.: Clinical application of the neutro-
phil alkaline phosphatase test.
Amer. J. Obstet. Gynec. 86 (1963),
903
22. CLINIE, A. R. W., W. L. HEINRICHS, I. J. FOSTER:
Neutrophilic Alkaline Phosphatase
Test.
Amer. J. clin. Path., Vol. 38,1
(1962), 95
23. DICZFALUSY, E., Ch. LAURITZEN: Östrogene beim Menschen.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidel-
berg, 1961
24. DORN, G. L.: Purification of two alkaline phos-
phatases from *Aspergillus nidulans*.
Biochim. biophys. Acta 132 (1967),
190
25. EBADI, M., E. Mc COY: Progesterone-mediated Increases
Of Leucocyte Alkaline Phosphatase
In Rabbits.
Biochim. biophys. Acta (1966), 502
26. ECKSTEIN, P.: Ovarian physiology in the non-preg-
nant female. In: The ovary,
Hsgh. S. Zuckerman, Bd. I, Academic
Press, New York-London, 1962

27. EMMENS, C. W., L. MARTIN: Anti-Estrogens.
In: Methods in Hormon Research,
Vol. III, S. 81, Academic Press,
New York - London, 1964
28. FIESSINGER, N., F. BOYER: Les Phosphatases des leuco-
cytes.
Enzymologia 1 (1936), 172
29. FLURY, R., T. WEGMANN: Das Verhalten der alkalischen
Leukozytenphosphatase beim Morbus
Hodgkin.
Schweiz. med. Wschr. 94 (1964), 958
30. GOMORI, G.: Microtechnical demonstration of
phosphatase in tissue sections.
Proc. Soc. exper. Biol. (N.Y.) 42
(1939), 23
31. GOMORI, G.: The distribution of phosphatase in
normal organs and tissues.
J. cell. comp. Physiol. 17 (1941), 71
32. GREENSTEIN, J. P.: Distribution of acid and alkaline
phosphatase in tumors, normal tissues
and the tissues of tumorbearing rats
and mice.
J. nat. Cancer Inst. 2 (1942), 511
33. GRUMBRECHT, P., A. LOESER: Die Funktion des Uterus bei
der Wirkung der Ovarialhormone auf
die Schilddrüse.
Arch. Gynäk. 167 (1938), 199

34. HAERING, M.: Das Verhalten der alkalischen Leukozytenphosphatase (ALP) in der Schwangerschaft, unter der Geburt und im Wochenbett.
Geburtsh. Gynäk. 2 (1964), 132
35. HARER, W. B., H. J. QUIGLEY: Alkaline Phosphatase Activity in Granular Leukocytes as a Test for Early Pregnancy.
Obstet. and Gynec. Vol. 17,2 (1961), 233
36. HOLT, S. J.: A new principle for the histochemical localization of hydrolytic enzymes.
Nature (Lond.) 169 (1952), 271
37. IMMEL, E., W. TILLING: Die alkalische Leukozytenphosphatase in der Differentialdiagnose der Lebererkrankungen.
Med. Klin. 59 (1964), 895
38. KAPLOW, L.S.: A Histochemical Procedure for Localizing and Evaluating Leukocyte Alkaline Phosphatase Activity in Smears of Blood and Marrow.
Blood, Vol. X (1955), 1023
39. KAY, H. D.: Plasma phosphatases in osteitis deformans and other diseases of bone.
Brit. J. exp. Path. 10 (1929), 253
40. KEISER, G.: Die Bedeutung der alkalischen Leukozytenphosphatase.
Schweiz. Med. Wschr. 97 (1967), 245

41. KLEIN, U. E., H. C. DRUBE, H. T. HANSEN, H. MIELKE:
Untersuchungen über Muster und Verteilung von Enzymen in der Schleimhaut des Gastrointestinaltraktes.
III. Mitteilung: Elektrophoretische Charakterisierung in multiplen Formen vorkommender Enzyme der Magen-, Dünndarm- und Rectumschleimhaut und vergleichende Serumanalysen.
Klin. Wschr. 45 (1967), 244
42. KOCH, E., D. REINY: Die alkalische Leukozytenphosphatase in der Differentialdiagnose hämatologischer Erkrankungen.
Klin. Wschr. 1 (1960), 26
43. LAMBERS, K.: Die alkalische Phosphataseaktivität der Blutzellen bei Leukosen und anderen pathologischen Zuständen.
Z. klin. Med. 155 (1950), 176
44. LAMBERS, K., P. BAUER-SIC: Hydrolytische Enzyme in der klinischen Diagnostik.
In: Zyto- und Histochemie in der Hämatologie, 9. Freiburger Symposium, Hsgb. H. Merker, Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1963
45. LORBACHER, P., R. FISCHER, D. SCHMÄHL: Über das Verhalten der alkalischen Leukozytenphosphatase bei experimentellen Tiertumoren.
Zyto- und Histochemie in der Hämatologie. 9. Freiburger Symposium, Hsgb. H. Merker, Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1963

46. MAQSOOD, N.: Thyreoidfunction in relation to reproduction of mammals and birds.
Biol. Rev. 27 (1952), 281
47. MENTEN, M. L., J. JUNGE, M. H. GREEN: A coupling histochemical azo dye test for alkaline phosphatase in the kidney.
J. biol. Chem. 153 (1944), 471
48. MERKER, H.: Die alkalische Leukozytenphosphatase und ihre diagnostische Bedeutung.
Klin. Wschr. 38 (1960), 1228
49. MERKER, H., L. HEILMEYER: Die alkalische Phosphatase neutrophiler Leukozyten.
Dtsch. med. Wschr. 85 (1960), 253
50. MERKER, H.: Grundlagen zur klinisch-morphologischen Blutdiagnostik mit Hydrolasen.
In: Zyto- und Histochemie in der Hämatologie, 9. Freiburger Symposium, Hsgb. H. Merker, Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1963
51. MINOR, A., H. BURNETT: A method for obtaining living leukocytes from human peripheral blood by acceleration of erythrocyte sedimentation.
Blood 3 (1948), 799
52. MOLONEY, W. C.: Histochemical studies on leukocytes.
Proc. 8th Congr. Europ. Soc. Haematol. 1961, part I, No. 9, S. Karger, Basel, 1962

53. MOOG, F., H. R. VIRE, R. D. GREY: The multiple forms of alkaline phosphatase in the small intestine of the young mouse. *Biochim. biophys. Acta* 113 (1966), 336
54. MÜLLER, D.: Die Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase unter zytostatischer Stosstherapie beim Malignomkranken. *Med. Klin.* 1 (1964), 7
55. MÜLLER, D.: Zur Frage der endokrinen Beeinflussung der alkalischen Leukozytenphosphatase. *Blut*, Bd. XIV (1967), 273
56. NATHANSON, I. T., L. E. TOWNE, I. C. AUB: Normal excretion of sex hormones in childhood. *Endocrinology* 28 (1941), 351
57. NOICKI, L., H. WERNZE: Über die alkalische Leukozyten- und Serumphosphatase bei hepatobiliären Erkrankungen und Tumoren. *Ärzt. Forsch.* 4 (1965), 194
58. OSTEN, W.: Aufarbeitung von Leukozyten zur Bestimmung intrazellulärer Enzyme. *Das Medizinische Laboratorium* 7 (1966), 161
59. PLENER, W.: Cytochemische Studie über das Verhalten der alkalischen Phosphatase der Leukozyten beim Neugeborenen. *Folia haemat.* 75 (1958), 378

60. PLENERT, W.: Methodische Studien zur Zytochemie der Leukozytenphosphatasen.
I. Mitteilung: Einfluß von Fixierung und Metallionen auf die Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatasen in Blutaussstrichen.
Histochemie 1 (1959), 171
61. PLENERT, W.: Methodische Studien zur Zytochemie der Leukozytenphosphatasen.
II. Mitteilung: Der Einfluß einiger Hemmstoffe und verschiedener organischer Verbindungen auf die Aktivität der alkalischen Leukozytenphosphatase.
Histochemie 1 (1959), 178
62. PLENERT, W.: Studien zur Zytochemie der Leukozytenphosphatasen im Kindesalter.
I. Mitteilung: Die alkalische Granulozytenphosphatase - Methodische Grundlagen und Normalwerte.
Folia haemat. 79 (1962), 273
63. PLENERT, W.: Studie zur Zytochemie der Leukozytenphosphatasen im Kindesalter.
III. Mitteilung: Die Beeinflussung der AGP-Aktivität durch Steroidpräparate.
Folia haemat. 80 (1962), 52
64. POLISHUK, V. Z., H. ZUCKERMAN, Y. DIAMANT: Alkaline Phosphatase Activity in Leukocytes During Menstrual Cycle.
Fert. and Steril. Vol. 19, 6 (1968), 901

65. POSEN, S.: Alkaline Phosphatase.
Ann. intern. Med. 67 (1967), 183
66. PRITCHARD, J. H.: Leucocyte Phosphatase Activity in
Pregnancy.
J. Lab. clin. Med. 50 (1957), 432
67. QUIGLEY, H. J., A. DAVSON, BONG HAK HYUN, R. Ph. CUSTER:
The Aktivity of Alkaline Phosphatase
in Granular Leukocytes During Preg-
nancy and the Puerperium: A Prelimi-
nary Report.
Amer. J. clin. Path. Vol. 33, 2 (1960),
109
68. RHEINGOLD, J. J., G. B. WISLOCKI: Histochemical methods
applied to hematology.
Blood 3 (1948), 641
69. ROCHE, J.: Blood-Phosphatase.
Biochem. J. 25 (1931), 1724
70. ROSNER, F., S. L. LEE: Endocrine Relationship of Leuko-
cyte Alkaline Phosphatase.
Blood Vol. 25, 3 (1965), 356
71. ROSSITER, R. J.: Effect of surface-active substances
on liberation of enzymes from rabbit
polymorphonuclear leucocytes.
J. Physiol. 108 (1949), 14
72. ROTTER, V.: Die Entwicklung der fetalen und
kindlichen Nebennierenrinde.
Virchows Arch. path. Anat. 316 (1949),
590

73. SADOVSKY, E., Y. Z. DIAMANT, H. ZUCKERMAN, W. Z. POLISHUK:
Leukocyte Alkaline Phosphatase In Pre-Eclampsia.
J. Obstet. Gynaec. Brit. Cwlth. 76
(1969), 538
74. SALTER, W. T.: The chemistry and physiology of the
thyreoid hormone.
In: The hormones, Hsgb. G. Pincus u.
K. V. Thimann, Bd. II, Academic Press,
New York - London, 1950
75. SCHMIDT, G.: Nonspecific Acid Phosphomonoesterases.
In P. D. Boyer, H. Lardy, K. Myrbeaek:
The Enzymes, Vol. V, S. 37, Academic
Press, New York - London, 1961
76. SCHUESSLER, H.: Über die chromatographische Auftrennung
sowie Aktivierung und Inaktivierung der
alkalischen Phosphatase aus Hühnerdarm.
Biochim. biophys. Acta 151 (1968), 383
77. SCHUMACHER, K.: Die Bedeutung der alkalischen Leukozy-
tenphosphatase für Differentialdiagno-
se und Prognose maligner Hämoblastosen.
Med. Welt 9 (1964), 1
78. SIEBKE, H.: Ergebnisse von Mengenbestimmungen des
Sexualhormons.
Zbl. Gynäk. 53 (1929), 2450
79. SRAMKOVA, L., H. GRANTOVA, E. MILEK: Die alkalische Leuko-
zytenphosphatase bei Masern.
Arch. Kinderheilk. Bd. 177, 2 (1968),
192

80. SRAMKOVA, L., E. PROCHAZKOVA: Die alkalische Phosphatase in neutrophilen Leukocyten bei Infektionskrankheiten.
Schweiz. med. Wschr. 98 (1968), 1325
81. SRAMKOVA, L., E. PROCHAZKOVA, M. NOVAK: Alkalische Leukozytenphosphatase bei Meningitis und Meningoenzephalitis.
Med. Klin. 64 (1969), 1748
82. STAETTLER, H.-J.: Die gestörte Regelung der Ovarialfunktion.
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1964
83. STAFF, W. G., R. W. BURSLEM, L. POLLER: The value of Leucocyte alkaline phosphatase determinations in the diagnosis of ectopic pregnancy.
J. clin. Path., Bd. 16 (1963), 124
84. STOBBE, H., P. NEUMANN: Die alkalische Granulozytenphosphatase bei Polycythaemia vera.
Z. ges. inn. Med. 18 (1963), 925
85. SUZUKI, U., K. YOSHIMURA, K. TAKAISHI: Zitiert nach Agus, S. G., R. P. Cox, M. J. Griffin: Inhibition of alkaline phosphatase by cysteine and its analogues.
Bull. Coll. Agric. Tokyo Imp. Univ. 7 (1907), 503
86. TAKAMATSU, H.: Histochemische und biochemische Studien über die Phosphatase (I).
Trans. Soc. path. jap. 29 (1939), 492

87. TRUBOVITZ, S., E. MOSCHIDES, D. FELDMANN: Alkaline Phosphatase Activity of the Polymorphonuclear Leukocyte in rapidly induced Leukopenia and Leukocytosis.
J. Lab. clin. Med. 57 (1961), 747
88. TRUBOVITZ, S., D. KIRMAN, B. MASEK: The leucocyte alkaline phosphatase in mongolism.
Lancet II (1962), 486
89. VALENTINE, W. N., W. S. BECK: Biochemical Studies On Leucocytes. I. Phosphatase Activity in Health, Leucocytosis and Myelocytic Leucemia.
J. Lab. clin. Med. Vol 38 (1951), 39
90. VALENTINE, W. N., W. S. BECK, J. H. FOLLETTE, H. MILLS, J. S. LAURENCE: Biochemical studies in chronic myelocytic leukemia, polycythemia vera and other idiopathic myeloproliferative disorders.
Blood 7 (1952), 959
91. VALENTINE, W. N., J. H. FOLLETTE, E. B. HARDIN, W. S. BECK, J. S. LAURENCE: Studies on Leukocyte Alkaline Phosphatase Activity: Relation to "Stress" and Pituitary-Adrenal Activity.
J. Lab. clin. Med. 44 (1954), 219
92. VALENTINE, W. N.: The enzymes of leukocytes.
Ann. New York Acad. Sci. 59 (1955), 1003

93. VALENTINE, W. M., J. H. FOLLETTE, D. H. SOLOMON, J. REYNOLDS: The Relationship of Leukocyte alkaline Phosphatase to "Stress", to ACTH, and to Adrenal 17-OH-Corticosteroids. J. Lab. clin. Med. 49 (1957), 723
94. VALLEE, B. L., W. L. HUGHES, J. G. GIBSON: The Preparation of Morphologically Intact Leukocytes from Peripheral Blood by Means of Gramicidin and Lysolecithin. Blood, special issue Nr. 1 (1947), 82
95. VANNOTTI, A.: Die enzymatische Aktivität der Leukozyten in der menschlichen Physiopathologie und die klinische Bedeutung der biochemisch-analytischen und zellchemischen Nachweismethoden. In: Zyto- und Histochemie in der Hämatologie, 9. Freiburger Symposium, Hsgb. H. Merker, Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1963
96. WACHSTEIN, M.: Alkaline phosphatase activity in normal and abnormal blood and bone marrow smears. J. Lab. clin. Med. 31 (1946), 1
97. WEISSEL, M.: Die alkalische Leukozytenphosphatase. II. Mitteilung: Das Verhalten der alkalischen Leukozytenphosphatase bei verschiedenen Krankheiten. Z. ges. inn. Med. 13 (1963), 577
98. WEISSEL, M., D. LOHMANN: Der Einfluss des Blutplasmas auf die alkalische Leukozytenphosphatase. Z. ges. inn. Med. 9 (1964), 397

99. WENDT, F., C. BUDDE: Das Verhalten der alkalischen Leukozytenphosphatase während der Initialphase der Fieberreaktion nach der Injektion von bakteriellern Endotoxin und endogenem Pyrogen beim Menschen. Folia haemat. N. F. 6 (1961), 149
100. WILLIAMS, M. J., J. L. MENDEL: Studies on the alkaline and acid phosphatase content of leukocytes in various hematological disorders. Tex. Rep. Biol. Med. 12 (1954), 429
101. WILTSHAW, E., W. C. MOLONEY: Histochemical and biochemical studies on leukocyte alkaline phosphatase activity. Blood, 10 (1955), 1120
102. WILTSHAW, E., W. C. MOLONEY: Studies on various factors influencing leucocyte and phosphatase activity. J. Lab. clin. Med. 47 (1956), 691
103. WINER, B.: Statistical Principles in Experimental Design. Mac Graw-Hill, London, 1962

